

Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. Dr. Dr. habil. F. Sinowatz

**Immunhistochemische, ultrastrukturelle und glykohistochemische
Untersuchungen am Pankreas des Afrikanischen Straußes**
(Struthio camelus)

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Christine Juliane Weyerer
aus Aschau im Chiemgau

München 2014

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Dr. Dr. habil. Fred Sinowatz

Korreferent: Univ. Prof. Dr. Dr. h.c. Hans-Joachim Gabius

Tag der Promotion: 12. Juli 2014

Für meine lieben Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	13
II.	LITERATURÜBERSICHT	14
1.	Anatomie des Pankreas.....	14
1.1.	Morphologie und Lage	14
1.2.	Blutversorgung	15
1.3.	Innervation	16
2.	Histologie des Pankreas	17
2.1.	Exokriner Anteil des Pankreas	17
2.2.	Endokriner Anteil des Pankreas	19
3.	Physiologie des Pankreas	23
3.1.	Exokriner Anteil des Pankreas	23
3.2.	Endokriner Anteil des Pankreas	24
3.2.1.	Insulin.....	24
3.2.2.	Glukagon	25
3.2.3.	Somatostatin	26
3.2.4.	Aviäres Pankreatisches Peptid (APP)	26
4.	Glykohistochemie	27
4.1.	Definition und Geschichte der Lektine	27
4.2.	Funktionen der Lektine	27
4.3.	Einteilung und Struktur der Lektine.....	28
5.	Immunhistochemie	31
5.1.	Einführung und Grundlagen.....	31
5.2.	Durchführung	31
5.3.	Das Zytoskelett.....	32
5.3.1.	α -SMA (= „smooth muscle actin“)	33
5.3.2.	Myosin.....	33
5.3.3.	Cytokeratine	33
5.3.4.	Vimentin.....	33
5.3.5.	Tubulin	34

III.	MATERIAL UND METHODEN	35
1.	Untersuchungsmaterial.....	35
2.	Materialentnahme und Probenvorbereitung.....	36
2.1.	Probenentnahme	36
2.2.	Fixierung für lichtmikroskopische Untersuchungen	37
2.3.	Fixierung für elektronenmikroskopische Untersuchungen	38
3.	Histologische Untersuchungsmethoden	39
3.1.	Konventionelle lichtmikroskopische Färbungen.....	39
3.1.1.	Hämatoxylin-Eosin (HE) – Färbung nach Mayer	39
3.1.2.	Resorcinfuchsin – van Gieson-Färbung	40
3.1.3.	Trichromfärbung nach Masson-Goldner	40
3.1.4.	Perjodsäure-Schiff-Reaktion (PAS-Reaktion)	41
3.1.4.1.	PAS-Reaktion nach McManus	41
3.1.4.2.	PAS-Reaktion nach Amylaseverdau	41
3.1.5.	Alcianblaufärbung pH 1,0 und pH 2,5	41
3.1.6.	Ermittlung des mittleren Durchmessers der Langerhans-Inseln und deren Verteilung innerhalb der Schenkel.....	42
3.2.	Glykohistochemische Untersuchungen	43
3.2.1.	Vorgehensweise	43
3.2.2.	Hemmzuckertests	44
3.3.	Immunhistochemische Untersuchungen	47
3.4.	Elektronenmikroskopische Untersuchungen.....	50
IV.	ERGEBNISSE	52
1.	Makroskopische Untersuchungen am Pankreas des Straußes	52
2.	Lichtmikroskopische Färbungen	55
2.1.	Übersichtsfärbungen.....	55
2.1.1.	Exokrines Pankreas	55
2.1.2.	Endokrines Pankreas	65
2.2.	Substrathistochemische Färbungen	70
2.2.1.	Exokrines Pankreas	70
2.2.1.1.	PAS-Reaktion nach McManus	70
2.2.1.2.	PAS-Reaktion nach Amylaseverdau	71
2.2.1.3.	Alcianblaufärbung	71

2.2.1.3.1.	Alcianblaufärbung 8GX pH 2,5	71
2.2.1.3.2.	Alcianblaufärbung 8GX pH 1,0	73
2.2.2.	Endokrines Pankreas	74
2.2.2.1.	PAS-Reaktion nach McManus	74
2.2.2.2.	PAS-Reaktion nach Amylaseverdau	75
2.2.2.3.	Alcianblaufärbung	75
2.2.2.3.1.	Alcianblaufärbung 8GX pH 2,5	75
2.2.2.3.2.	Alcianblaufärbung 8GX pH 1,0	76
2.3.	Ermittlung des mittleren Durchmessers der Langerhans-Inseln und deren Verteilung innerhalb der Schenkel	76
3.	Glykohistochemische Untersuchungen	77
3.1.	Lektinbindungsstellennachweis für Glukose/Mannose bindende Lektine	77
3.1.1.	Bindungsstellen für Canavalia ensiformis Agglutinin (ConA)	77
3.1.2.	Bindungsstellen für Lens culinaris Agglutinin (LCA)	79
3.1.3.	Bindungsstellen für Pisum sativum Agglutinin (PSA)	81
3.2.	Lektinbindungsstellennachweis für Galaktose bindende Lektine	83
3.2.1.	Bindungsstellen für Arachis hypogaea Agglutinin (PNA)	83
3.2.2.	Bindungsstellen für Ricinus communis Agglutinin (RCA)	83
3.3.	Lektinbindungsstellennachweis für N-Acetyl-D-Galaktosamin bindende Lektine	85
3.3.1.	Bindungsstellen für Dolichos biflorus Agglutinin (DBA)	85
3.3.2.	Bindungsstellen für Griffonia simplicifolia 1 Agglutinin (GSL-1)	85
3.3.3.	Bindungsstellen für Saphora japonica Agglutinin (SJA)	86
3.4.	Lektinbindungsstellennachweis für Galaktose und N-Acetyl-D-Galaktosamin bindende Lektine	86
3.4.1.	Bindungsstellen für Glycine max Agglutinin (SBA)	86
3.4.2.	Bindungsstellen für Sambucus nigra Agglutinin (SNA)	88
3.5.	Lektinbindungsstellennachweis für N-Acetyl-D-Glukosamin und N-Acetyl-D-Neuraminsäure bindende Lektine	90
3.5.1.	Bindungsstellen für Triticum vulgare Agglutinin (WGA)	90
3.5.2.	Bindungsstellen für Triticum vulgare Agglutinin succinyliert (WGAs)	94
3.6.	Lektinbindungsstellennachweis für L-Fucose bindende Lektine	96
3.6.1.	Bindungsstellen für Ulex europaeus Agglutinin (UEA-1)	96
3.7.	Lektinbindungsstellennachweis für Oligosaccharid bindende Lektine	97

3.7.1.	Bindungsstellen für Maackia amurensis Leukoagglutinin 1 (MAL-1)	97
3.7.2.	Bindungsstellen für Phaseolus vulgaris E Agglutinin (PHA-E)	99
3.7.3.	Bindungsstellen für Phaseolus vulgaris L Agglutinin (PHA-L)	101
3.8.	Ergebnisse der Zuckerhemmung	103
4.	Immunhistochemische Untersuchungen	104
4.1.	Immunhistochemischer Nachweis von „smooth muscle actin“ (α -SMA)	104
4.2.	Immunhistochemischer Nachweis von Myosin	105
4.3.	Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratinen	106
4.4.	Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin	108
4.5.	Immunhistochemischer Nachweis von Tubulin	109
4.6.	Immunhistochemischer Nachweis von Insulin	111
4.7.	Immunhistochemischer Nachweis von Glukagon	112
5.	Elektronenmikroskopische Untersuchungen.....	113
5.1.	Ultrastruktur des exokrinen Pankreas im Transmissionselektronenmikroskop (TEM).....	113
5.2.	Ultrastruktur des endokrinen Pankreas	120
V.	DISKUSSION	127
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	141
VII.	SUMMARY.....	143
VIII.	VERZEICHNISSE	145
1.	Literaturverzeichnis.....	145
2.	Verzeichnis der Abbildungen.....	160
3.	Verzeichnis der Tabellen	167
IX.	ANHANG	168
1.	Lichtmikroskopie	168
1.1.	Fixierung	168
1.2.	Puffer	168
1.3.	Lösungen für histologische Färbungen	169
1.3.1.	Hämatoxylin-Eosin (HE)-Färbung nach Mayer	169
1.3.2.	Alcianblau	169

1.3.3.	PAS-Reaktion (Periodic Acid Schiff – Reaktion) nach McManus	170
1.3.4.	Trichromfärbung nach Masson-Goldner	170
1.3.5.	Resorcinfuchsin – van Gieson-Färbung	171
2.	Lösungen für die glykohistochemischen Untersuchungen	172
3.	Lösungen für die immunhistochemischen Untersuchungen	174
4.	Lösungen für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen	175
4.1.	Fixierungen.....	175
4.2.	Puffer	175
4.3.	Kontrastierungslösungen	176
4.3.1.	Vorkontrastierungslösungen.....	176
4.3.2.	Nachkontrastierungsmedien	176
4.4.	Einbettmedien.....	176
4.5.	Färbelösungen	177
4.6.	Sonstiges.....	177
X.	DANKSAGUNG	178

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A.	Arteria	DBA	Dolichos biflorus Agglutinin
Abb.	Abbildung	DDSA	Dodecenyl Succinic Anhydrid
ABC	Avidin-Biotin-Complex	DEPC	Diethylpyrocarbonat
AK	Antikörper	DMSO	Dimethylsulfoxid
Aqua dest.	Aqua destillata	DNA	Desoxyribonukleinsäure
APP	Aviäres Pankreatisches Peptid	DO	Dorsalschenkel
AR	Artefakt	DU	Duodenum
AZ	Azinus	DZ	dunkle Zelle
AZM	Apikale Zellmembran	E	Endothel
BDMA	Benzyldimethylamine	ENDO	endokrines Gewebe
BG	Bindegewebe	EP	Epithel
biot.	biotinyliert	ERY	Erythrozyt
BM	Basalmembran	et al.	et alii
BZ	Becherzelle	EXO	exokrines Gewebe
bzgl.	bezüglich	EZ	Endothelzelle
bzw.	beziehungsweise	Fa.	Firma
°C	Grad Celsius	Fam.	Familie
ca.	circa	FITC	Fluorescein isothiocyanate
CCK	Cholecystokinin	FM	filamentöses Material
cm	Zentimeter	FR	freie Ribosomen
ConA	Concanavalin Agglutinin	Fuc	L-Fucose
DAB	Diaminobenzidin	FZ	Fibrozyt
DAPI	4',6-Diamidin-2- phenylindol	g	Gramm
		GA	Golgi-Apparat

Gal	D-Galaktose	KP	Kapillare
GalNAc	N-Acetyl-D-Galaktosamin	LCA	Lens culinaris Agglutinin
GF	Gefäß	LH	Langerhans-Insel
Glc	D-Glukose	LU	Lumen
GlcNAc	N-Acetyl-D-Glucosamin	m	Meter
GRA	Granula	M	Mol
GRA-A	A-Zell-Granula	MAL-1	Maackia amurensis Leukoagglutinin 1
GRA-B	B-Zell-Granula	Man	D-Mannose
GSL-1	Griffonia simplicifolia Agglutinin 1	mg	Milligramm
H ₂ O	Wasser	MI	Mitochondrium
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid	min.	Minute(n)
HC	Heterochromatin	ml	Milliliter
HCl	Salzsäure	mm	Millimeter
HE	Hämatoxylin-Eosin	MU	Muskelzelle(n)
HO	Hof	MZ	Zellen mittleren Chromatingehalts
HZ	helle Zelle	N.	Nervus
IgG	Immunglobulin G	Na ⁺	Natriumion
IMS	intermembranöser Spaltraum	NaCl	Natriumchlorid
IMSG	intramuraler Sekretgang	NaOH	Natriumhydroxid
IZS	Interzellulärer Spaltraum	NEG	negativ
K ⁺	Kaliumion	NeuNAc	N-Acetyl-D-Neuraminsäure
KF	kollagene Fibrillen	ng	Nanogramm
KM	Kernmembran	nm	Nanometer
		NU	Nucleolus
		O ₂	Sauerstoff

P	Pankreas	SNA	Sambucus nigra
PA	Papilla duodeni	SNB	supranukleärer Bereich
PAS	Periodic-Acid-Schiff	SO ₂	Schwefeldioxid
PBS	Phosphat-buffered-saline	sog.	sogenannt
PE	Perineurium	SP	Splenalschenkel
PHA-E	Phaseolus vulgaris Erythroagglutinin	SPT	Septum
PHA-L	Phaseolus vulgaris Leukoagglutinin	SSE	Schaltstückepithelzelle
PNA	Peanut Agglutinin	Std.	Stunde
PO	Pore	s/w	schwarz-weiß
POS	positiv	TE	Tunica externa
PSA	Pisum sativum Agglutinin	TEM	Transmissionselektronen-mikroskopie
RCA	Ricinus communis Agglutinin	TM	Tunica media
Rd.	Rind	tw.	teilweise
RER	raues endoplasmatisches Retikulum	u.a.	unter anderem
RT	Raumtemperatur	UEA-1	Ulex europaeus Agglutinin 1
SBA	Soybean Agglutinin	V.	Vena
SE	Sekret	VE	Ventralschenkel
sek.	Sekunde(n)	VEN	Venole
SG	Sekretgang	VS	Vesikel
SH	Schleimhaut	WGA	Wheat germ Agglutinin
SJA	Sophora japonica Agglutinin	WGAs	Wheat germ Agglutinin succinyliert
α-SMA	„smooth muscle actin“	ZAZ	Zentroazinäre Zelle
		z.B.	zum Beispiel
		ZK	Zellkern

ZM	Zellmembran
ZP	Zytoplasma
ZY	Zymogengranula
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer

I. EINLEITUNG

Der Afrikanische Strauß (*Struthio camelus*) gehört zur Familie der Struthionidae und ist der größte Vogel der Erde (Kumari und Kemp 1998). Seit Mitte der 90er Jahre des letzten Jahrhunderts wurden in Deutschland Straußenfarmen etabliert. Nicht nur sein Fleisch ist wegen seines niedrigen Kalorien- und Cholesteringehalts und seines hohen Gehalts an Eisen und Proteinen sehr beliebt, auch andere Produkte des Straußes (Leder, Federn, Eier usw.) erfreuen sich in den letzten Jahren immer größerer Beliebtheit. Jährlich werden über 550000 Schlachttiere weltweit produziert und die Konsumation des Straußenfleisches nimmt jährlich zu (Iji et al. 2003). Strauße verbringen täglich 70-80% ihrer Zeit mit Fressen. Eine kontinuierliche Futteraufnahme und Bewegung ist für ihre Verdauung essentiell (Aganga et al. 2003). Eine konstante Futteraufnahme zieht auch eine konstante Produktion und Sekretion von Pankreassäften und –enzymen nach sich. Das Pankreas stellt aber nicht nur die Enzyme zur Verdauung von Proteinen, Kohlenhydraten und Fetten zur Verfügung, es produziert in seinem endokrinen Gewebsanteil, der wahrscheinlich unabhängig vom exokrinen Pankreasgewebe agiert, wichtige Hormone zur Regulierung des Blutzuckerspiegels und somit Speicherung sowie Umsetzung von Energie. In der folgenden Studie wird sowohl das exokrine als auch das endokrine Pankreasgewebe des Straußes auf seine histologischen, immunhistochemischen, glykohistochemischen und ultrastrukturellen Besonderheiten hin untersucht. Ziel ist es dabei, die verhältnismäßig spärlichen Angaben zur Morphologie des Pankreas des Straußes durch immunhistochemische, glykohistochemische und elektronenmikroskopische Befunde zu ergänzen.



Abb. 1 Afrikanischer Strauß (*Struthio camelus*)

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Anatomie des Pankreas

1.1. Morphologie und Lage

Das Pankreas der Vögel ist eine langgestreckte, gegliederte Drüse, deren Farbe gelblich bis blassrosa ist und die in der rechten Abdominalhöhle zu liegen kommt. Sie ist im Mesoduodenum zwischen den beiden Schenkeln des Duodenums lokalisiert und liegt dort in einer Serosadoppellamelle (Cooper und Mahroze 2004). Die Bauchspeicheldrüse gilt als die längste Drüse der Vögel und variiert in ihrer Größe von Spezies zu Spezies. Nach Bezuidenhout beträgt die Länge der Drüse beim Strauß im Durchschnitt 20 cm (Bezuidenhout 1986). Das Gewicht dieses Organs ist artspezifisch unterschiedlich groß (z.B. bei der Wachtel 1-3g, bei der Gans 8,5-16,5g (Nickel et al. 2004)). Beim Strauß nimmt das Pankreas fast die komplette Länge des Duodenalschenkels ein. Es erstreckt sich vom Muskelmagen bis zum Ende der Duodenalschleife (Bezuidenhout 1986, Stornelli et al. 2006).

Laut Nickel et al. (2004) kann das Pankreas beim Vogel in drei Lappen gegliedert werden: dem etwas längeren Dorsallappen (Lobus pancreatis dorsalis), welcher parallel mit dem absteigenden Teil des Duodenums (Pars descendens duodeni) verläuft, dem etwas kürzeren Ventrallappen (Lobus pancreatis ventralis), der dem aufsteigenden Duodenalteil (Pars ascendens duodeni) folgt, sowie dem kleinen, mehr oder weniger ausgeprägten Milzlappen (Lobus pancreatis splenalis), der meist dem Dorsallappen, seltener dem Ventrallappen angegliedert ist. Letzterer kann allerdings auch isoliert vorkommen (Nickel et al. 2004). Er erstreckt sich im Ligamentum hepatoduodenale je nach Vogelart zum Teil bis in die Milzregion. Dieser Splenalschenkel ist beim Strauß makroskopisch nicht immer deutlich identifizierbar, mikroskopisch jedoch sehr wohl nachweisbar (Stornelli et al. 2006). Beim Hirtenstar (*Mynah/Acridotheres tristis*) konnte kein Milzschenkel identifiziert werden (Saadatfar und Asadian 2009).

Der Dorsallappen ist über Parenchymbrücken mit dem Ventrallappen verbunden (Stornelli et al. 2006), wodurch Einziehungen ins Gewebe entstehen und sich die einzelnen Lappen wiederum in einen Dorsal- und Ventralteil (Pars dorsalis und

Pars ventralis) untergliedern lassen (Nickel et al. 2004). Eine weitere Unterteilung des Ventrallappens in einen ventralen Hauptlappen und einen Drittlappen ist möglich (Mikami und Ono 1962).

Das Pankreas dient sowohl als exokrine, als auch als endokrine Drüse. Der exokrine Drüsenanteil sezerniert beim Strauß Verdauungsenzyme über meist nur einen einzigen Ausführungsgang ins Duodenum. Dieser entsteht meist aus zwei sich vereinigenden, intralobulären Gängen (Stornelli et al. 2006). Der Ausführungsgang mündet in der Pars ascendens duodeni schräg in die Duodenalwand in der Papilla duodenalis. Auch zwei separat verlaufende Hauptausführungsgänge, die in die Papilla duodenalis münden, wurden beim Strauß beobachtet (Stornelli et al. 2006). Bei der Gans werden ebenfalls zwei Hauptausführungsgänge beschrieben (Gülmez 2003). Nickel et al. beschreiben drei Ausführungsgänge: den Ductus pancreaticus dorsalis, den Ductus pancreaticus ventralis und den etwas kleineren Ductus pancreaticus accessorius (Nickel et al. 2004). Es wird im Zuge dessen beschrieben, dass diese Ausführungsgänge im Allgemeinen nicht miteinander kommunizieren.

Der endokrine Teil des Pankreas, die Langerhans-Inseln, sind für die Produktion der Hormone Insulin, Glukagon, Somatostatin und APP (Aviäres Pankreatisches Polypeptid) zuständig. Die Verteilung dieser inkretorisch wirksamen Areale im pankreatischen Gewebe ist tierartlich unterschiedlich. Die Langerhans-Inseln (Insulae pancreaticae) sind Zellgruppen, die verstreut im Drüsenparenchym liegen, jedoch eine vom exokrinen Pankreasteil unabhängige Aufgabe übernehmen (Liebich 2010). Es gibt sogenannte A-, B- und D-Inseln, die unterschiedliche Anteile von A-, B-, D- und APP-Zellen enthalten und somit unterschiedliche Anfärbbarkeit zeigen (Nickel et al. 2004). Eine eingehende Darstellung des inkretorischen Bauchspeicheldrüsenanteils erfolgt im Kapitel 2. *Histologie*.

1.2. Blutversorgung

Das Pankreas der Vögel wird hauptsächlich durch die (bei manchen Vogelspezies auch paarig ausgebildete) A. pancreaticoduodenalis versorgt, welche aus dem Ramus dexter der A. coeliaca hervorgeht (Nickel et al. 2004). Die A. pancreaticoduodenalis entsendet u.a. Rami pancreatici und versorgt damit die einzelnen Lappen der Bauchspeicheldrüse. Der venöse Abfluss erfolgt über die V.

pancreaticoduodenalis, welche in die V. gastropancreaticoduodenalis und schließlich in die Pfortader (V. portae) führt, von wo aus das venöse Blut zunächst in die Leber gelangt (Nickel et al. 2004).

1.3. Innervation

Die Bauchspeicheldrüse wird durch die beiden Teile des vegetativen Nervensystems (Sympathikus und Parasympathikus) versorgt. Parasympathisch erfolgt die nervale Versorgung durch den N. vagus. Die sympathische Innervation erfolgt durch den N. splanchnicus major, der am Ganglion coeliacum auf das zweite sympathische Neuron umgeschaltet wird, welches dann das Pankreas versorgt (Achilles 2008). Die Synthese und Sekretion der Hormone Insulin, Glukagon, Somatostatin und APP wird durch das vegetative Nervensystem gesteuert (Richins 1945). Die Nervenfasern des Sympathikus und Parasympathikus verlaufen beim Huhn zusammen mit intrapankreatischen Arterien innerhalb des Bindegewebes. Dort erstrecken sie sich in die Nähe der exkretorischen Drüsenazini und Langerhans-Inseln. Viele dieser Nervenfasern verlaufen in direkter Nähe zu den Ausführungsgängen (Ulas et al. 2003).

2. Histologie des Pankreas

Die Bauchspeicheldrüse der Vögel gliedert sich in einen exokrinen und einen endokrinen Teil. Der exokrine Teil (Pars exocrina pancreatici), welcher eine rein seröse Drüse darstellt, produziert Verdauungsenzyme zur Spaltung von Kohlenhydraten, Proteinen und Fetten. Der exokrine Pankreasanteil macht mit ca. 99% den Hauptteil der Bauchspeicheldrüse aus (Mikami und Ono 1962; Oakberg 1949). Der endokrine Teil (Pars endocrina pancreatici) stellt die Hormone Insulin, Glukagon und Somatostatin für den Kohlenhydratstoffwechsel zur Verfügung.

Das Pankreas ist in eine zarte, kollagen-elastische Kapsel eingehüllt. Die Kapsel entsendet Bindegewebssepten ins Innere des Organs, sodass durch dieses Fasergeflecht eine Trennung in einzelne Drüsenazini erfolgt (Hummel 2000). Das Pankreas ist vom Bauchfell überzogen und von Fettgewebe umgeben.

2.1. Exokriner Anteil des Pankreas

Wie bereits erwähnt stellt das Pankreas eine rein seröse, tubulo-azinäre Drüse dar. Sie besteht aus Endstücken und einem mit kubischen Zellen ausgestatteten, weit verzweigten Gangsystem. Die traubenförmig aufgebauten Azini sind seröse Drüsenendstücke mit einem Lumen, in welchem das von den Azinuszellen produzierte Sekret gesammelt und zwischengespeichert wird. Die Zellen der Azini sind hochprismatische, aktiv Protein produzierende Zellen (Nickel et al. 2004). Mikroskopisch lässt sich eine basale, stark basophile Zone und eine apikale, azidophile Zone unterscheiden. In der Basalzone, die durch einen hohen RNA-Gehalt charakterisiert ist, findet sich eine große Dichte an rauem endoplasmatischen Retikulum (rER) (Liebich 2010). In diesem basalen Bereich liegt auch der Zellkern.

Die luminale (apikale) Zymogenzone ist supranukleär im Zytoplasma angesiedelt. Dort befindet sich ein großer Golgi-Apparat, von dem sich Sekretbläschen, die sog. Zymogengranula abschnüren (Nickel et al. 2004). Diese Sekretgranula stellen die inaktive Vorstufe, und somit die Vorläufer der Verdauungsenzyme dar. Sie werden durch Exozytose ins Lumen der Azini freigesetzt und als inaktive Vorstufen über Ausführungsgänge schließlich ins Duodenum abgegeben. Die einzelnen Azini sind von einer Basallamina umhüllt, die wiederum von retikulären Fasern gestützt ist.

Den Übergang von den zu Komplexen formierten Azini zu den Sekretausführungsgängen bilden sog. Schaltstücke (Ductus intercalatus), die ein einschichtiges, isoprismatisches Plattenepithel besitzen (Liebich 2010). Charakteristisch für diese Zonen sind Zentroazinäre Zellen, die auch Schaltstückepithelzellen genannt werden und als Erkennungsmerkmal der Bauchspeicheldrüse im Hinblick auf andere Speicheldrüsen des Körpers angesehen werden (Sinowatz und Hees 2012). Nicht immer sind diese Zentroazinären Zellen im mikroskopischen Schnitt erkennbar. Diese Ausführungsgangzellen ragen teils in das Lumen der Azini hinein, sodass im mikroskopischen Anschnitt ein Zellkern zentral im Azinus zu finden ist. Die Zellkerne der Schaltstückepithelzellen erscheinen im mikroskopischen Bild heller als die Zellkerne der Azinuszellen und weisen einen oder mehrere Nucleoli auf (Sinowatz und Hees 2012).

Die Zentroazinären Zellen münden dann in gemeinsamen Sammelgängen (Tubuli conjunctivi), welche wiederum ein hochprismatisches Epithel mit vereinzelt Becherzellen aufweisen (Nickel et al. 2004). Beim Hirtenstar konnten in Studien keine Zentroazinären Zellen beobachtet werden (Saadatfar und Asadian 2009).

Die Schaltstücke gehen dann in die kurzen intralobulären Gänge (Ductus intralobulares) über, die über ein iso- bis hochprismatisches Epithel verfügen und äußerlich von Bindegewebe umgeben sind. Die weitaus größeren interlobulären Gänge (Ductus interlobulares) sind ebenfalls von Bindegewebe und obendrein von einer dünnen Schicht glatter Muskulatur umgeben (Gülmez 2003). Im Gegensatz zur Parotis findet man im Pankreas keine Streifenstücke (Liebich 2010). Die einzelnen Tubuli interlobulares münden dann schließlich in einen Hauptausführungsgang, dem Ductus pancreaticus. Dieser verfügt über drei Schichten: eine innere, stark gefaltete Schleimhautschicht mit hochprismatischen Zellen, eine innere longitudinale und eine äußere zirkuläre Muskelschicht, sowie eine bindegewebige Tunica adventitia (Nickel et al. 2004; Stornelli et al. 2006). Innerhalb der dicken Wandung der größeren Ausführungsgänge (Ductus interlobulares und Ductus pancreaticus) konnten bei der Gans exokrine Drüsenzellansammlungen festgestellt werden (Gülmez 2003). Bei diesen Zellen lässt sich dieselbe Struktur wie bei den übrigen Azinuszellen feststellen und es befinden sich in diesen Regionen sowohl Schaltstücke als auch Ductus intra- und interlobulares.

2.2. Endokriner Anteil des Pankreas

Die Langerhans-Inseln (*Insulae pancreaticae*) stellen den inkretorisch wirksamen Bestandteil der Bauchspeicheldrüse dar, wobei der Durchmesser der Pankreasinseln zwischen 75 und 300 µm betragen kann. Innerhalb der Pankreasinseln von Vögeln lassen sich A-, B-, D-Zellen und APP-Zellen unterscheiden (Nickel et al. 2004). Von Smith (1974) wurde im Pankreas der Wachtel eine vierte Zellart, die Typ IV-Zelle beschrieben (Smith 1974). Diese Zellen besitzen in ihrem Zytoplasma spezifische Hormongranula, welche in der Transmissionselektronenmikroskopie wichtige Unterscheidungskriterien darstellen. Die Granula sind Peptidhormone, welche vom Golgi-Apparat und vom rauen Endoplasmatischen Retikulum produziert werden und durch Exozytose in die nahegelegenen Blutgefäße abgegeben werden.

Die Glukagon-produzierenden A-Zellen sind die größten Zellen der Pankreasinseln und stellen ca. 20% des gesamten Anteils an endokrinen Zellen im Pankreas dar. Der Gehalt an A-Zellen ist beim Huhn im Splenalschenkel am höchsten (Mikami und Ono 1962; Rawdon und Andrew 1999). Die hochprismatischen A-Zellen besitzen einen ovalen Zellkern und diese enthalten wiederum einen oder mehrere Nucleoli. Der Golgi-Apparat ist sehr klein und der Anteil an rauem endoplasmatischen Retikulum ist gering (Nickel et al. 2004). Die von dort abgeschnürten, durchschnittlich 500 nm großen Granula enthalten das Hormon Glukagon, das sich inhomogen mit dunklem Zentralteil und hellerem Hof in der Peripherie darstellt. Diese Granula siedeln sich am vaskulären Pol an (Nickel et al. 2004) und sind von einer zarten Membran umgeben (Mikami und Mutoh 1971).

Die B-Zellen des Pankreas produzieren Insulin und stellen den Hauptanteil (ca. 60-80%) der Zellen der Pankreasinseln dar (Hsu und Crump 1989). Diese Zellen haben säulenartige Gestalt und sind um zentrale Kapillaren herum angeordnet. Ihre Zellkerne sind rund, kompakt und heterochromatinreich. Charakteristisch für diese Zellen sind die insulinhaltigen Granula mit dichtem kristalloiden Inhalt (Nickel et al. 2004). Die durchschnittlich ca. 580 nm großen Granula der B-Zellen sind von einer zarten Membran umgeben (Mikami und Mutoh 1971).

Weiters sind D-Zellen zu finden, welche Somatostatin bereitstellen und über eine inhibitorische Wirkung auf A- und B-Zellen, sowie über das exokrine Pankreas verfügen. Ihr Anteil im gesamten endokrinen Pankreasgewebe ist ca. 5%. D-

Zellen haben gewöhnlich spindelartiges Aussehen und produzieren homogene Sekretgranula, die sich am vaskulären Pol ansammeln und ca. 500 nm Durchmesser besitzen. Diese sind von einer undeutlichen Membran umgeben (Mikami und Mutoh 1971). Weitere Zellorganellen, wie Mitochondrien und der Golgi-Apparat siedeln sich am gegenüberliegenden Pol an (Kobayashi 1969). D-Zellen sind zwar überall im endokrinen Pankreasgewebe zu finden, liegen jedoch bevorzugt in der Peripherie der B-Inseln. Im Pankreas der Vögel ist 300mal mehr Somatostatin pro Gewichtseinheit enthalten als beim Säugetier (Nickel et al. 2004).

Die Typ IV-Zellen, die bei der Wachtel beschrieben wurden besitzen ovale oder bikonkave Granula. Der Durchmesser der Granula beträgt in etwa 580 nm, sie besitzen eine höhere Dichte als die der B-Zellen (Smith 1974).

Außerdem gibt es im endokrinen Pankreasgewebe der Hühner und Wachteln die Avian Pancreatic Polypeptid (APP) produzierenden Zellen, die in direkter Nähe zu Blutkapillaren liegen (Hummel 2000). Sie besitzen eine vieleckige Form und ihre 300-400 nm großen Granula haben eine homogene Erscheinung mit durchschnittlicher Dichte (Larsson et al. 1974).

Weiters können beim Huhn und bei der Wachtel die „enterochromaffinähnlichen Zellen“ beobachtet werden, die zahlreiche pleomorphe Granula mit rel. großem Durchmesser (ca. 670 nm) enthalten. Ihr Erscheinung entspricht in etwa dem der Typ IV-Zellen der Wachtel (Nickel et al. 2004).

Tab. 1 Übersicht über die unterschiedlichen endokrinen Zelltypen beim Vogel

Zelle	Produkt	Morphologie der Granula	Granula - Durchmesser
A-Zelle	Glukagon	zentral dunkel mit hellem Hof	500 nm
B-Zelle	Insulin	dichter kristalloider Inhalt	580 nm
Typ IV-Zelle	nicht bekannt	hohe Dichte	580 nm
D-Zelle	Somatostatin	homogener Inhalt	500 nm
APP-Zelle	Aviäres Pankreatisches Polypeptid	homogener Inhalt	300-400 nm
„Enterochromaffin-ähnliche Zelle“	nicht bekannt	pleomorph mit hoher Dichte	670 nm

Die Pankreasinseln können je nach Zellverteilung und damit verbundenem Färbeverhalten in dunkle A-Inseln, helle B-Inseln und Mischtypen eingeteilt werden.

A-Inseln sind die größten Inseln des endokrinen Pankreas und erreichen bei der Ente einen Durchmesser von mehreren Millimetern (Hellerström 1963). Sie bestehen vorwiegend aus A-Zellen, wobei aber auch D-Zellen und sehr wenige B-Zellen zu finden sind (Nickel et al. 2004). Bei der Gans wurden keine B-Zellen innerhalb der A-Inseln festgestellt (Gülmez et al. 2004). Die A-Inseln im Milzlappen des Huhnes bestehen zu 72% aus A-Zellen (Mikami und Ono 1962). Die Zellen der A-Inseln bei der Gans sind dichter angesiedelt als die Zellen innerhalb der B-Inseln (Gülmez et al. 2004). Die größten und meisten A-Inseln befinden sich im Ventral- und Splenalschenkel, wobei eine oder mehrere A-Inseln von vielen kleineren B-Inseln umgeben sind (Tarakcy et al. 2007). Die A-Inseln der Ente grenzen sich nur sehr undeutlich vom umliegenden exokrinen Pankreasgewebe ab (Hellerström 1963). Auch bei der Gans konnte diese Tatsache

in Studien nachgewiesen werden (Mobini 2011; Gülmez et al. 2004).

Die deutlich kleineren B-Inseln bestehen hauptsächlich aus B- und D-Zellen und sind in allen Pankreasschenkeln vertreten (Nickel et al. 2004). Dies konnte u.a. bei der Taube nachgewiesen werden (Das und Biswal 1967). Die B-Inseln sind u.a. bei Gänsen durch eine dünne Kollagenschicht vom exokrinen Pankreasgewebe getrennt und es lassen sich sogar innerhalb der B-Inseln feine Bindegewebsfasern lokalisieren (Mobini 2011). Die B-Inseln bestehen beim Huhn zu 86% aus B-Zellen (Mikami und Ono 1962). Bei Gänsen sind B-Inseln zirkulär um Blutkapillaren herum angeordnet (Gülmez et al. 2004).

Die gemischten Langerhans-Inseln enthalten vorwiegend B-Zellen, wobei vereinzelt auch A- und D-Zellen eingelagert sind (Hummel 2000). Sämtliche Pankreasinseln des Huhnes können dem gemischten Inseltyp zugeordnet werden (Watanabe et al. 1990). Im endokrinen Pankreas der Gans konnten hingegen keine gemischten Langerhans-Inseln beobachtet werden (Mobini 2011), auch nicht bei Tauben (Mobini 2013). Im endokrinen Pankreas von Enten (Das und Biswal 1967; Lucini et al. 1996) und bei der Wachtel (Simsek et al. 2008) hingegen wurden gemischte Inseltypen festgestellt. Vorangegangene Studien zeigten, dass innerhalb der Langerhans-Inseln die Insulin-produzierenden B-Zellen zentral lokalisiert sind (Tarakcy et al. 2007; Gülmez et al. 2004), wohingegen die Glukagon-produzierenden A-Zellen in der Peripherie zu finden sind. Somatostatin-bildende D-Zellen sind in beiden Bereichen zugegen (Gülmez et al. 2004; Mensah-Brown et al. 2000).

3. Physiologie des Pankreas

3.1. Exokriner Anteil des Pankreas

Wie bereits erwähnt besteht das exokrine Pankreas aus Azini und einem komplexen Ausführungssystem. Während in den Azinuszellen die Verdauungsenzyme sowie Natrium- und Chloridionen sezerniert werden, geben die Gangzellen eine bicarbonatreiche Elektrolytlösung ab, wobei Na^+ - und K^+ -Ionen passiv folgen und somit auch Wasser osmotisch überführt wird (Engelhardt 2009).

Die von den Azinuszellen hergestellten Enzyme sind inaktive Peptidasen (Trypsinogen, Chymotrypsinogen, Proelastase, Procarboxypeptidasen), aktive Nucleasen (Ribo-, Desoxyribonuclease), aktive α -Amylase und Lipasen (aktive Lipase, inaktive Pro-Colipase, inaktive Pro-Phospholipase A_2 , aktive Cholesterinesterase). Bei den Enzymen, bzw. Enzymvorläufern handelt es sich um Proteine, die von den Ribosomen im Zytoplasma der Azinuszellen synthetisiert werden und in die Hohlräume (Zisternen) des rER abgegeben werden. Die vom rER abgegebenen Zymogengranula enthalten eine Mischung dieser Enzyme. Die reifen Zymogengranula werden schließlich von einer Membran umgeben und konzentrieren sich im Bereich des apikalen Zellpols. Durch Exozytose an der apikalen Zellmembran entleeren die Vesikel dann schließlich ihren leicht alkalischen Pankreassaft (pH-Wert je nach Spezies zwischen 6,4 und 7,8) in das Lumen der Azini (Nickel et al. 2004). Von dort gelangt er über die Sammelgänge in die verzweigten Sekretrohre und schließlich in den Hauptausführungsgang (Ductus pancreaticus). Von dort wird der inaktive Bauchspeichel ins Duodenum abgegeben, wo er daraufhin durch das membrangebundene Enzym Enteropeptidase (Enterokinase) aktiviert wird. Dieses Enzym bewirkt, dass Trypsinogen in Trypsin umgewandelt wird, welches wiederum die Aktivierung der anderen Pankreasenzyme vorantreibt (Engelhardt 2009). Diese Aktivierungskaskade ist ein Schutzmechanismus der Bauchspeicheldrüse vor Selbstverdauung.

Beim frischgeschlüpften Strauß konnte kein Trypsin nachgewiesen werden; erst ab dem 27. Lebenstag war dieses Enzym nachweislich vorhanden (Iji 2005). Die Enzymaktivität von Chymotrypsin und Lipase sinkt mit dem Alter etwas ab, die Aktivität der Amylase jedoch bleibt konstant (Iji 2005).

Die Produktion und die Ausschüttung des Pankreassaftes wird sowohl bei Säugern als auch bei Vögeln hormonell und neural reguliert (Engelhardt 2009). Nach Transport des Mageninhaltes in den vorderen Dünndarm sinkt aufgrund der darin enthaltenen Magensäure der pH-Wert im Dünndarm ab. Dies führt dazu, dass das in den Zellen des Dünndarms liegende Hormon Sekretin in die Blutbahn abgegeben wird und die Gangzellen des Pankreas aktiviert werden. Über die Aktivierung der Adenylatcyclase wird ein bicarbonatreiches Sekret sezerniert. Die Pufferung des säurehaltigen Chymus durch das alkalische Gangzellen-Sekret führt wiederum zur Hemmung der Sekretinabgabe. Neuronal wird die Sekretion über den Parasympathikus gesteuert. Neben Sekretin bewirkt auch noch das von Magenzellen produzierte Hormon Gastrin eine Stimulierung der Pankreassaftproduktion (Eckert et al. 2002).

Auch die Azinuszellen unterliegen endokrinen und neuralen Steuerungsmechanismen. Das ebenfalls in den endokrinen Zellen des proximalen Duodenums lokalisierte Hormon Cholecystokin (CCK) und der Parasympathikus steuern die Sekretion der Verdauungsenzyme. Die Abgabe von CCK wird durch Aminosäuren, die durch Spaltung von Proteinen im Dünndarm entstanden sind und durch Fettsäuren aktiviert (Engelhardt 2009).

Ebenso spielen bei der Sekretion der Pankreasenzyme andere Stimuli wie Magendehnung und Geschmack eine Rolle. Auch das Hormon Somatostatin hat einen hemmenden Einfluss auf die Pankreassaftproduktion (Eckert et al. 2002).

3.2. Endokriner Anteil des Pankreas

3.2.1. Insulin

Das anabol wirkende Hormon Insulin wird von den B-Zellen der Pankreasinseln gebildet, welche im exokrinen Pankreasgewebe eingebettet liegen. Eine geringe Zahl Insulin-positiver Zellen konnten in Studien an Hühnern mittels immunhistochemischer Methoden bereits ab dem 5. Embryonaltag in den Pankreasinseln nachgewiesen werden (Bagnell et al. 1989). Während die Insulinsekretion beim Säugetier hauptsächlich durch einen erhöhten Blutglukosespiegel stimuliert wird, scheint beim Vogel Glukose nicht der entscheidende Auslöser für die Insulinausschüttung zu sein (Pilny 2008). Andere Faktoren wie das Wachstumshormon (GH, Growth Hormone, Somatotropin), das gastrisch-inhibitorische Peptid, Adrenalin und ein erhöhter Aminosäurespiegel im

Blut scheinen eher die Insulinausschüttung anzuregen (Eckert et al. 2002; DeBeer et al. 2008). Das freigesetzte Insulin bindet an spezifischen Insulinrezeptoren, was wiederum eine Kaskade weiterer Reaktionen auslöst. Einerseits fördert Insulin die Aufnahme von Glukose in die Körperzellen, andererseits bewirkt es die Kohlenhydratspeicherung in Form von Glykogen in der Leber, in der Muskulatur und im Fettgewebe. Dadurch sinkt der Blutzuckerspiegel. Insulin hemmt die Lipolyse im Fettgewebe und sorgt für die Synthese von Triglyzeriden aus Lipiden in Leber und Fettgewebe. Außerdem wird die Proteinsynthese aus Aminosäuren vermehrt stimuliert und die Proteine werden in den Muskelzellen gespeichert. Weiters hemmt Insulin die Neubildung von Glukose (Gluconeogenese) in der Leber und die Freisetzung von pankreatischem Somatostatin (Kühnel 2011).

Studien zeigten, dass Hungerzustände bis zu 72h beim Huhn und bei der Ente keinen oder nur minimalen Einfluss auf die Plasmainsulinkonzentration haben (Langslow et al. 1970; Samols et al. 1969).

3.2.2. Glukagon

Das katabol wirkende Hormon Glukagon wird von den A-Zellen des Pankreas gebildet und hat eine antagonistische Wirkung auf Insulin. Es wird durch das Vorhandensein von Fettsäuren und CCK freigesetzt (Pilny 2008). Wie Insulin bindet dieses katabol wirkende Hormon an spezifische Rezeptoren (Glukagon-Rezeptoren), wobei im endokrinen Pankreas der Vögel mehr Glukagon-Rezeptoren als Insulin-Rezeptoren nachgewiesen wurden (Pilny 2008). Diese Beobachtung führte zu der Annahme, dass Glukagon das dominierende Hormon im Kohlenhydratstoffwechsel der Vögel ist (Hazelwood 1984). Im Gegensatz zur schwachen Wirkung von Glukose auf Insulin hat Glukose einen relativ starken inhibitorischen Effekt auf Glukagon (Pilny 2008). Glukagon wird bei Hypoglykämie ausgeschüttet und bewirkt einen verstärkten Abbau der Speicherform von Glukose (Glykogenolyse) in der Leber, sowie eine Hemmung der Glykogensynthese (Engelhardt 2009). Außerdem stimuliert es die Lipolyse, sodass durch die gewonnenen Fettsäuren Gluconeogenese betrieben werden kann. Aus Aminosäuren kann ebenfalls Glukose gebildet werden. Glukagon stimuliert die Freisetzung von pankreatischem Somatostatin (Kühnel 2011). Die Inaktivierung von Glukagon findet in der Leber statt.

3.2.3. Somatostatin

Das Peptidhormon Somatostatin wird im Hypothalamus und in kleinen Mengen auch in den D-Zellen des Pankreas gebildet. Es hemmt auf parakrinem Weg die Freisetzung von Glukagon und Insulin aus den benachbarten endokrinen Inselzellen (A- und B-Zellen) (Pilny 2008). Die Konzentration von Somatostatin ist beim Vogel 2-4fach höher als beim Säuger (Hummel 2000). Es besitzt antagonistische Wirkung auf Somatotropin (Wachstumshormon) und hemmt somit dessen Ausschüttung. Außerdem reduziert es u.a. die Sekretion von Gastrin, CCK und Sekretin. Somatostatin hat insulin-antagonistische Wirkung im Glukosestoffwechsel. Es wirkt einer Hypoglykämie entgegen, indem es den Blutzuckerspiegel erhöht. Somatostatin stimuliert die Gluconeogenese aus Fettsäuren und fördert für die Energiegewinnung den Verbrauch von Fettsäuren anstatt von Glukose. Somatostatin hemmt weiters die Aufnahme von Glukose ins Gewebe. Die Somatostatin-Konzentration im Pankreas der Vögel kann bis zu 150-mal höher sein als die der Säugetiere (Pilny 2008).

Hinsichtlich der exokrinen Pankreasfunktionen hemmt dieses Peptidhormon die Sekretion von Magensäure und die Darmmotilität, regt aber die Sekretion der Pankreasenzyme an (Eckert et al. 2002). Somatostatin kann außer im Pankreas auch noch in den D-Zellen des Magen-Darm-Trakts, in den C-Zellen der Schilddrüse und im Hypophysenvorderlappen gebildet werden (Liebich 2010).

Die Sekretion von Somatostatin steht unter nervaler, hormonaler, humoraler und parakriner Kontrolle (Pilny 2008). Es wird vor allem durch den Einfluss von Acetylcholin, Glukose und bestimmte Aminosäuren freigesetzt (Hummel 2000).

3.2.4. Aviäres Pankreatisches Peptid (APP)

Das Aviäre Pankreatische Polypeptid wird von APP-Zellen produziert und liegt im Blut der Vögel in Konzentrationen zw. 2-8 und 4-12 ng/ml vor. Es hemmt die Sekretion der Verdauungsenzyme und die durch Gastrin stimulierte Magensaftsekretion. Außerdem hat es auf die glatte Muskulatur der Gallenblase eine erschlaffende Wirkung und hemmt die Motilität von Magen und Darm (Sinowatz und Hees 2012). APP bewirkt außerdem einen Glykogenabbau, der Blutglukosespiegel bleibt dabei jedoch weitgehend konstant (Hummel 2000). Bei Küken stimuliert es die Freisetzung der Magensäure und die Glykogenolyse in der Leber (Hazelwood 1973).

4. Glykohistochemie

4.1. Definition und Geschichte der Lektine

Der Begriff der Lektine leitet sich vom lateinisch Wort „legere“ (=auswählen) ab und wurde erstmals von Shapleigh und Boyd (1954) verwendet. Lektine wurden als blutgruppenspezifische Agglutinine definiert, die in Samen und anderen Pflanzenteilen nachgewiesen werden konnten und ähnlich wie Antikörper Erythrozyten agglutinieren (Boyd und Shapleigh 1954). Entdeckt wurden die ersten Lektine jedoch schon 1888 im Extrakt vom Rizinussamen. Sie wurden je nach Herkunft in Hämagglutinine, Phytagglutinine und Phytohämagglutinine eingeteilt (Stillmark 1888). Das erste Lektin, das aus dem Samen der Schwertbohne (*Canavalia ensiformis*) isoliert wurde, wurde von James B. Sumner als Concanavalin A (ConA) betitelt (Sumner 1919). Die Agglutination durch ConA konnte durch Glukose gehemmt werden, wodurch erstmals die Zuckerspezifität der Lektine nachgewiesen werden konnte (Sumner und Howell 1936). Lektine können außer in Pflanzen auch in Tieren, Pilzen und Mikroorganismen nachgewiesen werden (Rüdiger und Gabius 1993).

4.2. Funktionen der Lektine

Lektine sind Proteine oder Glykoproteine tierischen oder pflanzlichen Ursprungs, die an spezifischen Kohlenhydratstrukturen, und somit Zellmembranen reversibel und nicht kovalent binden und dort eine biochemische Reaktion auslösen, ohne dabei selbst enzymatisch aktiv zu sein bzw. den Glykosylliganden zu verändern (Goldstein und Poretz 1986; Goldstein und Hayes 1978). Sie präzipitieren Polysaccharide, Glykoproteine und Glykolipide (Goldstein et al. 1980) und unterscheiden sich voneinander durch Zusammensetzung, Molekulargewicht, Anzahl und Struktur der Untereinheiten und Anzahl der Zuckerbindungsstellen je Molekül (Sharon 1977). Diese Glykoproteine sind aus einer individuellen Sequenz von Aminosäuren zusammengesetzt und haben Massen zwischen 8500 und 300.000 Mol (Pühler 2000). Nach neuester Definition von Gabius et al. (2011) sind Lektine kohlenhydratbindende Proteine mit fehlender enzymatischer Aktivität an ihren Liganden. Sie können von Antikörpern und Sensor- bzw. Transportproteinen für freie Mono- und Oligosaccharide differenziert werden (Gabius et al. 2011).

Diese Lektinmoleküle sind in zahlreiche zellbiologische Prozesse involviert, unter anderem spielen sie eine große Rolle bei Zellinteraktionen und Zellerkennungsmechanismen. Ein Lektin besitzt meist mindestens zwei Kohlenhydratbindungsstellen (Berg et al. 2013). Die Reaktion von Lektinen erfolgt über Wasserstoffbrückenbindungen meist an randständigen Kohlenhydratmolekülen, wobei auch interne Zuckersequenzen erkannt werden können (Gabius und Gabius 1993). Bei den glykohistochemischen Untersuchungen wird die Spezifität der Lektinbindung genutzt, um die Struktur von Glykanen (Zuckerreste von Oligosaccharide, die N- oder O-glykosidisch an ein Protein gebunden sind (Roth 2011)) zu untersuchen. Dabei stellen die Glykane Liganden dar, die von den Lektinen rezeptorspezifisch erkannt werden (Gabius 2009; Gabius und Gabius 1993). Lektine zeigen unterschiedliche Spezifität für Kohlenhydratstrukturen im Molekül, wobei es möglich ist, dass gleiche Lektine an unterschiedlichen Kohlenhydraten binden.

Lektine können für lichtmikroskopische Untersuchungen mit Enzymen (HRP = Horseradish Peroxidase) oder Fluorochromen (FITC = Fluoreszein-Isothiozyanat, Rhodamin etc.) markiert werden.

Weiters werden meist parallel zu den Untersuchungen über die Zuckerzusammensetzung von Glykokonjugaten in Geweben Hemmzuckertests durchgeführt. Dabei wird untersucht, ob sich die Lektinbindung durch Zugabe spezifischer Kohlenhydrate hemmen oder aufheben lässt.

4.3. Einteilung und Struktur der Lektine

Die Pflanzenlektine können je nach ihrer Zuckerbindungseigenschaft und Spezifität für verschiedene Zuckerarten in verschiedene Klassen eingeteilt werden. Im Folgenden erfolgt die Einteilung nach D-Mannose/D-Glukose bindende, D-Galaktose bindende, N-Acetyl-D-Galaktosamin bindende, N-Acetyl-D-Glukosamin bindende, L-Fucose bindende und Sialinsäure bindende Lektine. Des Weiteren wird noch eine weitere Gruppe der Lektine mit komplexen Kohlenhydratstrukturen unterschieden.

Tab. 2 Einteilung der Lektine nach ihrer Zuckerbindungsspezifität (Goldstein und Poretz 1986)

Zuckerspezifität	Herkunft	Abkürzung
D-Mannose/D-Glukose bindende Lektine	<i>Canavalia ensiformis</i>	ConA
	<i>Lens culinaris</i>	LCA
	<i>Pisum sativum</i>	PSA
D-Galaktose bindende Lektine	<i>Arachis hypogaea</i>	PNA
	<i>Griffonia simplicifolia</i>	GSL-1
	<i>Ricinus communis</i>	RCA 1 und 2
	<i>Erythrina cristagalli</i>	ECA
N-Acetyl-D-Galaktosamin bindende Lektine	<i>Phaseolus limensis</i>	LBA
	<i>Glycine max</i>	SBA
	<i>Helix pomatia</i>	HPA
	<i>Bauhinia purpurea</i>	BPA
	<i>Maclura pomifera</i>	MPA
	<i>Vicia villosa</i>	VVA
	<i>Dolichos biflorus</i>	DBA
N-Acetyl-D-Glukosamin bindende Lektine	<i>Triticum vulgare</i>	WGA
	<i>Ulex europaeus 2</i>	UEA-2
	<i>Griffonia simplicifolia 2</i>	GSL-2
	<i>Laburnum alpinum</i>	LAA
	<i>Solanum tuberosum</i>	STA
L-Fucose bindende Lektine	<i>Ulex europaeus 1</i>	UEA-1
	<i>Lotus tetragonolobus</i>	LTA
Sialinsäure bindende Lektine	<i>Limulus polyphemus</i>	LPA
	<i>Limax flavus</i>	LFA
Lektine mit komplexen Kohlenhydratbindungsstellen	<i>Phaseolus vulgaris</i>	PHA-E und PHA-L

Nach neueren Untersuchungen ist die Einteilung nach Goldstein und Poretz nicht mehr ganz aktuell. Einige Lektine lassen sich nicht streng kategorisieren und haben neben ihrer Spezifität für Monosaccharide auch eine mehr oder weniger starke Affinität für Oligosaccharide (Gabijs 2009).

Außerdem berücksichtigt diese Einteilung weder die Stellung des spezifischen Zuckers innerhalb der Zuckersequenz, noch die Auswirkungen der benachbarten Zuckerbindungen auf diese Bindung. Eine weitere Einteilung der Lektine in zwei Klassen bzgl. ihrer Reaktion und der Zuckerzusammensetzung, die die kompetitive Hemmung der Lektine ermöglicht, kann deshalb erfolgen (Gallagher 1984):

Klasse-1-Lektine (Exolektine):

Die Bindung erfolgt an einem endständigen speziellen Bestandteil des Monosaccharids in den komplexen Polysacchariden. Für die Hemmung dieser Bindung durch einen spezifischen Hemmzucker reicht eine geringe Konzentration desselben aus.

Klasse-2-Lektine (Endolektine):

Hier erfolgt die Lektinbindung an komplexen Kohlenhydratsequenzen innerhalb eines Glykoproteins. Je nachdem, ob ihre Affinität zu gleichartigen oder verschiedenartigen Zuckersequenzen höher ist unterscheidet man innerhalb dieser Gruppe noch einmal unter homo- und heterotypischen Endolektinen.

5. Immunhistochemie

5.1. Einführung und Grundlagen

Die Immunhistochemie befasst sich mit der histochemischen Sichtbarmachung von Antigen-Antikörper-Reaktionen im Gewebe. In der Medizin und Forschung wird die Immunhistochemie angewandt, um z.B. Erreger zu identifizieren oder Tumoren zu klassifizieren. Mithilfe dieser Färbemethoden können im Gewebe unterschiedliche Zellstrukturen (Oberflächenantigene, zytoplasmatische Antigene und Kernantigene) dargestellt werden. Diese Antigene bestehen aus Proteinen, Glykoproteinen, Lipoproteinen oder Polysacchariden, mit denen die eingesetzten Antikörper eine Antigen-Antikörper-Reaktion eingehen (Freund 2008). Die Reaktion, die durch diese Affinität von den Antikörpern zu den speziellen Gewebearten ausgelöst wird, wird durch die Bindung eines gekoppelten Farbstoffes optisch sichtbar gemacht (Kolb 1991; Welsch 2011). Bei der direkten Nachweismethode wird der mit einem Farbstoff markierte Antikörper direkt mit dem zu untersuchenden Gewebeschnitt inkubiert. Neben diesem direkten Verfahren gibt es auch noch ein indirektes Nachweisverfahren, bei dem anstatt des markierten Primärantikörpers ein markierter Sekundärantikörper verwendet wird, der dann wiederum an einen unmarkierten Primärantikörper binden kann (Mulisch und Welsch 2010). Bei dieser Methode ist die Sensitivität des Antigennachweises erhöht.

5.2. Durchführung

Die Antikörper in der Immunhistochemie können z.B. FITC-markiert sein, wobei diese dann bei Licht bestimmter Wellenlänge im Fluoreszenzmikroskop grün-gelb fluoreszieren (Romeis et al. 1989). Dabei muss darauf geachtet werden, dass die Auswertung dieser Färbung zeitnah zu den Untersuchungen erfolgen muss, da die Präparate schnell ausbleichen. Ein weiteres Verfahren zur Darstellung der Antigen-Antikörper-Reaktion ist die ABC (Avidin-Biotin-Complex-Methode) (Mulisch und Welsch 2010). Diese Versuchsmethode basiert auf einer hohen Bindungsfähigkeit des Glykoproteins Avidin und dem Vitamin Biotin, wobei Avidin vier Moleküle von Biotin binden kann. Streptavidin, ein aus dem Bakterium *Streptomyces avidinii* isoliertes Produkt, ersetzt hier Avidin. Ein biotinylierter Sekundärantikörper bildet das Bindeglied zwischen dem

Primärantikörper und dem Komplex aus Streptavidin und einer biotinylierten Peroxidase. Die frei bleibenden Biotin-Bindungsstellen am Molekül können nun mit dem Biotin des Sekundärantikörpers reagieren.

5.3. Das Zytoskelett

Das Zytoskelett ist ein dreidimensionales Netzwerk aus Filamenten und Mikrotubuli im Zytoplasma eukaryotischer Zellen. Ihre Aufgaben sind die mechanische Verankerung und Stütze der Zelle, die Bewegung der Zelle und der Transport innerhalb dieser (Huber et al. 2013). In der Zelle können drei Klassen von Zytoskelettkomponenten unterschieden werden, die verschiedene Aufgaben übernehmen und durch unterschiedliche Proteine gebildet werden: Mikrofilamente (Aktinfilamente), Intermediärfilamente und Mikrotubuli. Daneben gibt es noch Begleitproteine, wie z.B. Myosin und Synemin.

Die Aktinfilamente bestehen aus Aktin und sind u.a. für die Formerhaltung der Zelle mitverantwortlich. Aktin ist der Gruppe der Mikrofilamente zuzuordnen, wobei innerhalb dieser Gruppe zwischen „ α -smooth-muscle-actin“, „ γ -smooth-muscle-actin“ (glatte Muskelzellen), „ α -skeletal-actin“ (Skelettmuskelzellen) und „ α -cardiac-actin“ (Herzmuskel) unterschieden werden kann (Vandekerckhove et al. 1981). Die Aktinfilamente bilden zusammen mit Transmembranproteinen unter der Zellmembran ein stabiles Gerüst. Bei der Muskelkontraktion arbeitet Aktin eng mit Myosin zusammen. Aktinfilamente besitzen Durchmesser von ca. 7 nm.

Bei den Intermediärfilamenten (Durchmesser ca. 10 nm) unterscheidet man verschiedene Proteinklassen: Keratine, Desmin, Vimentin, Lamine, Neuro- und Gliafilamentproteine. Sie dienen u.a. der mechanischen Stabilisierung der Zellen. Keratine sind v.a. in den Epithelzellen zu finden und sind dort an der Ausbildung von Desmosomen beteiligt. Desmin kann in Verbindung mit Myofibrillen in der Skelett- und der glatten Muskulatur gefunden werden. Das filamentäre Protein Vimentin wird in Mesenchymzellen (z.B. Endothelzellen, Fibroblasten) vorgefunden. Lamine kleiden die innere Schicht der Zellkerne aus. Neuro- und Gliafilamente tragen zur mechanischen Stabilisierung der Nervenaxone bei.

Mikrotubuli (Durchmesser ca. 25 nm) bestehen aus dem Protein Tubulin und sind u.a. für Transportvorgänge und Bewegungen von Organellen innerhalb der Zelle mitverantwortlich (Sinowatz und Hees 2012).

5.3.1. α -SMA (= „smooth muscle actin“)

Das „smooth muscle actin“ (α -SMA), das Aktin in glatten Muskelzellen, ist Teil der Strukturproteine des Zytoskeletts im Mikrofilamentsystem und somit ein Marker für kontraktile Zellen. Es wird in den Gefäßwänden, in der Lamina muscularis mucosa und Tunica muscularis des Darmes, sowie in verschiedenen Zellen des Stromas vieler Gewebearten exprimiert (Vandekerckhove und Weber 1978). Forschungen von Skalli et al. (1986) an unterschiedlichen Geweben verschiedener Tierarten kamen zu dem Ergebnis, dass sich der Antikörper gegen α -SMA am besten zu Studien der glatten Muskulatur eignet.

5.3.2. Myosin

Als Myosin wird eine Gruppe von Motorproteinen bezeichnet, die als Bestandteil der Sarkomere in den Muskelzellen vorkommen. Es ist neben der Muskelkontraktion auch am intrazellulären Transport beteiligt (Eckert et al. 2002). Myosin bewegt sich bei der Muskelkontraktion entlang von Aktinfilamenten. Eine weitere Aufgabe ist die Zellbewegung und Zelladhäsion. Hier werden verschiedene Klassen mit unterschiedlicher Zusammensetzung aus leichten und schweren Aminosäuren-Ketten unterschieden (Berg et al. 2013).

5.3.3. Cytokeratine

Cytokeratine werden von epithelialen Zellen gebildet und repräsentieren den wichtigsten Teil des Zytoskeletts. Cytokeratine werden nicht selten mit Vimentin in verschiedenen Epithelzellen koexprimiert, sodass neben der räumlichen, auch eine funktionelle Beziehung angenommen wird (Kasper und Karsten 1988). Cytokeratinfilamente bauen einen intrazellulären Zusammenschluss aus, der mit den Desmosomen in Verbindung steht (Palacios et al. 1993).

5.3.4. Vimentin

Vimentin ist ein Phosphoprotein im Zytoskelett von Eukaryonten. Es findet sich im Zytoplasma und im Zellkern von nichtmuskulären Mesenchymzellen (z.B. Endothelzellen, Fibroblasten, Knochen- und Knorpelzellen) (Cooper 1985). Vimentin spielt eine zentrale Rolle in der Verankerung der Organellen im Zytosol, in der Aufrechterhaltung der Zellform und der Interaktion der Organellen im Zytoplasma (Katsumoto et al. 1990).

5.3.5. Tubulin

Tubulin stellt als die Untereinheit von Proteinen der Mikrotubuli eine zentrale Rolle in den Zellstrukturen dar und ist für verschiedenste Zellfunktionen zuständig. Tubulin ist u.a. für den Transport von exportfähigen Proteinen mitverantwortlich (Launay et al. 1983). Mikrotubuli bilden zusammen mit dem Aktin- und Intermediärfilamentsystem das zytoplasmatische Zytoskelett (Kühnel 2011).

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Untersuchungsmaterial

Die Proben für die histologischen Untersuchungen wurden von insgesamt zehn Afrikanischen Straußen (*Struthio camelus*) entnommen. Die Tiere entstammten der Straußenfarm Donaumoos (Fam. Engelhardt, Leipheim), in der sie auch gezüchtet und aufgezogen wurden. Für die Untersuchungen wurde aus fünf weiblichen und fünf männlichen, frisch geschlachteten, klinisch gesunden Tieren das Pankreas vollständig entnommen. Die Strauße hatten ein Lebendgewicht von ca. 90-110 kg, das Schlachalter betrug ca. 14 -18 Monate. Die Schlachtung erfolgte in einem Schlachtraum direkt am Straußenhof. Die Proben wurden unmittelbar nach der Schlachtung entnommen und für die Weiterverarbeitung in verschiedene Fixierungslösungen eingebracht.

Tab. 3 Übersicht über die in der Studie verwendeten Tiere

Tiernummer	Rasse	Alter	Geschlecht
1	Afrikanischer Strauß	18 Monate	weiblich
2	Afrikanischer Strauß	18 Monate	männlich
3	Afrikanischer Strauß	18 Monate	weiblich
4	Afrikanischer Strauß	18 Monate	weiblich
5	Afrikanischer Strauß	14 Monate	männlich
6	Afrikanischer Strauß	14 Monate	weiblich
7	Afrikanischer Strauß	14 Monate	männlich
8	Afrikanischer Strauß	14 Monate	männlich
9	Afrikanischer Strauß	14 Monate	weiblich
10	Afrikanischer Strauß	14 Monate	männlich

2. Materialentnahme und Probenvorbereitung

2.1. Probenentnahme

Die Strauße wurden im Rahmen der Schlachtung mit einer Schweinezange elektrisch betäubt. Nach dem Ausbluten durch Eröffnung der Halsschlagader im Zuge der Dekapitation wurden die Tiere gerupft und enthäutet. Nach dem Eröffnen der Körperhöhle wurden die abdominalen Organe entnommen. Das Pankreas wurde aus der Duodenalschleife in Gänze entnommen und anschließend abgewogen. Die durchschnittliche Größe der entnommenen Bauchspeicheldrüsen wurde gemessen, wobei die Höhe, Länge und Breite der einzelnen Pankreasschenkel ermittelt wurde.

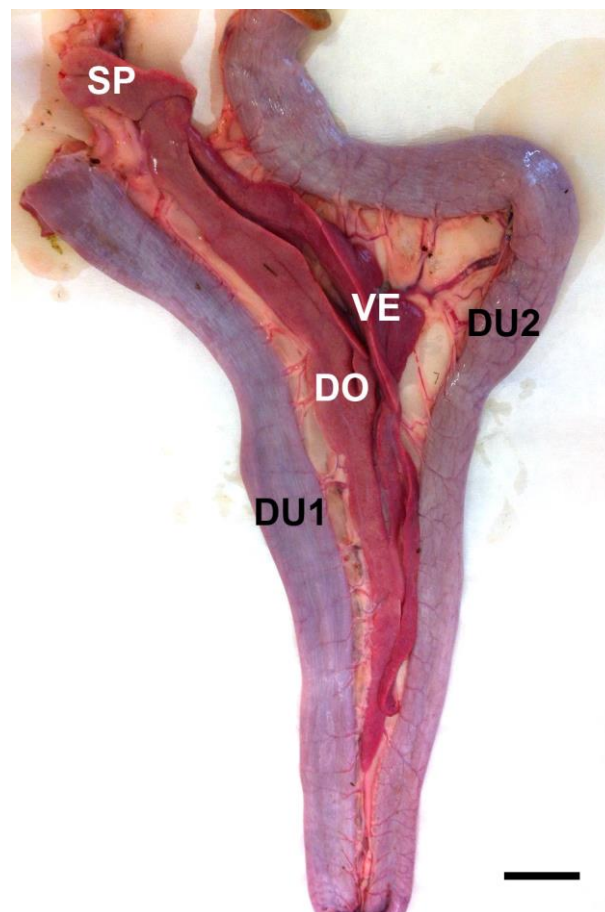


Abb. 2 Pankreas Strauß, 14 Monate, Pankreas in der Duodenalschleife

SB = 4 cm

DU1 = absteigender Duodenalteile, DU2 = aufsteigender Duodenalteile,

DO = Dorsalschenkel, VE = Ventalschenkel, SP = Splenalschenkel

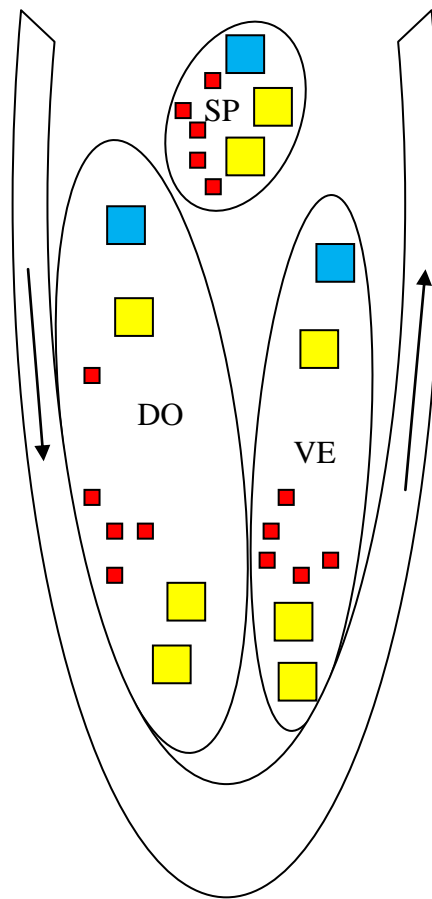


Abb. 3 Schematische Darstellung der Probenentnahmestellen beim Strauß

- Proben für Karnovsky-Fixierung
- Proben für Bouin-Fixierung
- Proben für Formalin-Fixierung

Do = Dorsalschenkel, VE = Ventralschenkel, SP = Splenalschenkel

2.2. Fixierung für lichtmikroskopische Untersuchungen

Aus den drei Schenkeln des Pankreas wurden mit Hilfe einer Skalpellklinge ca. 1x1x1 cm große Würfel herausgeschnitten. Die Organe wiesen keinerlei pathologische Veränderungen auf. Von den Dorsal- und Ventralschenkeln wurden je 3 Proben, von den Splenalschenkeln je 2 Proben für die Bouin-Fixierung (Romeis et al. 1989) entnommen. 1 Probe von jedem der 3 Schenkel wurde in 4%ige PBS-gepufferte Formalinlösung (Romeis et al. 1989) eingebracht. Die Proben wurden in gleichmäßigen Abständen über das gesamte Organ entnommen (s. Abb. 3). Die genaue Zusammensetzung der Einbettungsmedien bzw. alle anderen im Laufe der Arbeit erwähnten Lösungen, Puffer und Chemikalien sowie deren Herstellungsfirmen befinden sich unter Kapitel 9. *Anhang*.

Die Bouin-Lösung wurde nach 24 Stunden erneuert und nach weiteren 24 und 48 Stunden jeweils gegen 70%igen Alkohol ausgetauscht. Die Blöcke in der Formalinlösung wurden einmalig in eine frische Formalinlösung eingebracht und daraufhin mehrmals gegen jeweils frisches DEPC-Wasser (sterilisierter PBS-Puffer) getauscht. Schließlich erfolgte auch hier das Einbringen in 70%igem Alkohol.

Nach diesen Arbeitsschritten wurden die Gewebeblöcke zugeschnitten, sodass sie die passende Größe für die Kapseln für die weitere Verarbeitung und Einbettung in Paraplast® (Fa. Monoject Scientific Inc., Kildare, Irland) hatten. Diese Einbettung fand im Einbettungsautomaten Shandon Duplex Processor® (Fa. Shandon, Frankfurt) statt. Darin erfolgte eine Entwässerung mittels aufsteigender Alkoholreihe: 96% Alkohol, Isopropanol, Xylol und anschließender Durchtränkung mit Paraplast®. Dieser Vorgang dauerte in etwa 24 Stunden. Nach Ablauf dieser Zeit wurden die durchtränkten Gewebeproben mittels dem Paraffinautomat Leica EG 1140H (Fa. Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch) in Paraplast®-Blöcke gegossen und ca. eine Stunde ausgehärtet.

Anschließend wurden von jedem Block 30 Schnitte mit einer Dicke von 5 µm mit Hilfe eines Rotationsmikrotoms Mikrom®Typ HM 340 E (Fa. Mikrom International GmbH, Walldorf) angefertigt. Nachdem sie zum Glätten und Ausbreiten in ein Warmwasserbad gebracht wurden, wurden sie auf Objektträger aufgenommen. 10 dieser Schnitte wurden auf unbeschichtete (SuperFrost®), 20 davon auf beschichtete Glasobjektträger (SupraFrostUltraPlus adhäsiv®, Fa. Gerhard Menzel GmbH, Braunschweig) aufgezogen. Die Trocknung dieser Schnitte erfolgte auf Metallständern (Fa. Wagner & Munz, München) bei ca. 37°C über mindestens 24 Stunden in einem Wärmeschrank (Fa. Bender & Hobein, München/Karlsruhe).

2.3. Fixierung für elektronenmikroskopische Untersuchungen

Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen des Straußenpankreas wurden von allen Pankreasschenkeln aller untersuchter Tiere je vier 1x1x1mm große Würfel entnommen, die im Zuge einer Immersionsfixierung nach Karnovsky (Karnovsky 1965) eingebracht wurden. Diese Mischung wurde erst kurz vor Gebrauch hergestellt. Die Proben wurden für 12 Stunden fixiert.

3. Histologische Untersuchungsmethoden

3.1. Konventionelle lichtmikroskopische Färbungen

Wie nachfolgend beschrieben, wurden die Schnitte für die konventionellen lichtmikroskopischen Färbungen zuerst mittels absteigender Alkoholreihe entparaffiniert. Nach den verschiedenen Färbeverfahren wurden die angefärbten Schnitte schließlich mit Hilfe von Xylol-verdünntem Eukitt® (Fa. Riedel de Haen AG, Seelze) und Deckglasplättchen auf den Objektträgern dauerhaft fixiert.

3.1.1. Hämatoxylin-Eosin (HE) – Färbung nach Mayer

Dieses weit verbreitete histologische Färbeverfahren beinhaltet zwei verschiedene Einzelfärbungen. Dabei wird Hämatoxylin, ein natürlicher Farbstoff aus dem Blauholzbaum in das färbende Hämalaun umgewandelt (Godwin 2011). Dieser Farbstoff färbt basophile Gewebsstrukturen blau bis blauschwarz, v.a. Zellkerne aufgrund ihrer enthaltenen DNA und auch das mit Ribosomen angereicherte rER im Zytoplasma. Eosin hingegen ist ein synthetischer Farbstoff, der alle azidophilen Strukturen rot anfärbt. Dazu gehören u.a. Zellplasmaproteine, Mitochondrien, Kollagen und Bindegewebe. Diese genannten Strukturen können eine blassrosa bis rot-violette Färbung erhalten. Das Muskelgewebe erscheint in der HE-Färbung rot und Erythrozyten rot-orange.

Färbeverfahren:

1. Xylol	10 min.
2. Xylol	10 min.
3. Absteigende Alkoholreihe bis Aqua dest.	
4. Kernfärbung mit Hämalaun	20 min.
5. kurz Abspülen in Aqua dest.	
6. Fließend Leitungswasser zum Bläuen	20 min.
7. Eosin	10 min.
8. Abspülen in Aqua dest.	
9. Aufsteigende Alkoholreihe	
10. Xylol	5 min.
11. Xylol	5 min.
12. Eindecken mit Eukitt® quick-hardening mounting medium ³	

3.1.2. Resorcinfuchsin – van Gieson-Färbung

Die Resorcinfuchsin – van Gieson-Färbung ist eine häufig in der Histologie verwendete Färbemethode zur Darstellung von elastischen Fasern von Bindegewebe und Muskulatur. Durch die Gegenfärbung der Zellkerne mit Eisenhämatoxylin wird eine genauere Differenzierung erreicht. Die elastischen Fasern färben sich bei dieser Methode blau-schwarz und die Zellkerne dunkelbraun an. Wohingegen kollagene Fasern leuchtend rot und Muskelgewebe gelb gefärbt werden. Das Zytoplasma stellt sich grau-gelb dar.

Färbeverfahren:

1. Entparaffinieren bis Aqua dest.	
2. Resorcinfuchsinlösung	15 – 30 min.
3. Auswaschen in fließendem Leitungswasser	1 min.
4. Eisenhämatoxylin nach Weigert	2 – 3 min.
5. 3x in Aqua dest. Spülen	
6. Spülen in fließendem Leitungswasser	10 min.
7. Pikrinsäure-Thiazinrot	5 min.
8. Kurz in Aqua dest. Spülen	
9. Entwässern, Xylol, Eukitt®	

3.1.3. Trichromfärbung nach Masson-Goldner

Die Trichromfärbung nach Masson-Goldner dient der differenzierten Anfärbung von Bindegewebskomponenten. Die Kernfärbung erfolgt mit Eisenhämatoxylin. Weitere Färbestandteile sind Azophloxin, Orange G zur Zytoplasmafärbung, sowie Lichtgrün. Bei der Trichromfärbung nach Masson-Goldner färben sich Zellkerne braunschwarz, das Zytoplasma schwach-orange bis ziegelrot, Erythrozyten leuchtend rot und Bindegewebe, Kollagen sowie Schleim grün an. Muskelzellen stellen sich hellrot dar.

Färbeverfahren:

1. Entparaffinieren	
2. Eisenhämatoxylin nach Weigert	1-2 min.
3. Auswaschen in fließendem Leitungswasser	10 min.
4. Azophloxin	5 min.
5. Abspülen in 1%iger Essigsäure	
6. Differenzieren in Phosphormolybdänsäure-Orange	15s – 30 min.
7. Kurz in 1%iger Essigsäure abspülen	
8. Gegenfärbung mit Lichtgrün	5 min.
9. Kurz in 1%iger Essigsäure abspülen	
10. Entwässern, Xylol, Eukitt®	

3.1.4. Perjodsäure-Schiff-Reaktion (PAS-Reaktion)

3.1.4.1. PAS-Reaktion nach McManus

Die PAS-Reaktion nach McManus dient zum Nachweis von Polysacchariden (Glykogen, Stärke, Zellulose), neutralen Mukopolysacchariden, Muko- und Glykoproteinen, Glykolipiden, ungesättigten Fetten und Phospholipiden (Romeis, 1989). Glykolhaltige Substanzen weisen eine rote Färbung auf, die Kerne erscheinen durch die Hämalanfärbung blau (Hennemann 1991).

Färbeverfahren:

1. Entparaffinieren bis Aqua dest.	
2. Einstellen in 0,5%ige Perjodsäure-Lösung	5 min.
3. Spülen in Aqua dest.	
4. Schiffssches Reagenz	15 min.
5. Spülen in SO ₂ -Wasser	3 x 2 min.
6. Auswaschen in fließendem Leitungswasser	5 min.
7. Kernfärbung mit Hämalan	3-5 min.
8. Wässern in H ₂ O	15 min.
9. Entwässern, Xylol, Eukitt®	

3.1.4.2. PAS-Reaktion nach Amylaseverdau

Durch den Einsatz von α -Amylase wird Glykogen abgebaut. Dazu erfolgt zwischen der Entparaffinierung und der Behandlung mit der 0,5%igen Perjodsäure-Lösung eine Amylasevorbehandlung. Dabei werden je 100 μ l der 0,5%igen α -Amylase auf die Objektträger getropft und 10 min. bei 37°C im Wärmeschränk inkubiert. Anschließend werden die Objektträger mit Leitungswasser gespült und das PAS-Verfahren ab Punkt 2. wie oben beschrieben fortgeführt.

3.1.5. Alcianblaufärbung pH 1,0 und pH 2,5

Alcianblau 8 GX (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim) ist ein wasserlöslicher Phthalocyaninfarbstoff, der zur selektiven Färbung von Muzinen Verwendung findet (Mulisch und Welsch 2010). Diese Färbung wurde mit pH-Werten von 1,0 und 2,5 parallel durchgeführt, um zwischen Carboxyl- und Sulfatgruppen differenzieren zu können. Das Verfahren bei einem pH-Wert von 2,5 ermöglicht den Nachweis saurer Glykoproteine (z.B. Muzine). Dabei gehen alle negativ geladenen Moleküle (saure Muzine und andere sulfatierte oder carboxylierte Makromoleküle) eine Bindung mit dem positiv geladenen Farbstoff Alcianblau

8GX ein (Lev und Spicer 1964). Hierbei erscheinen alle sauren Muzine und Glykosaminglykane leuchtend blau, Zellkerne rot und der Hintergrund rosa. Eine Unterscheidung zwischen Sulfat- und Carboxylgruppen kann hierbei nicht getroffen werden. Bei dem differenzierten Verfahren mit einer pH-Einstellung auf 1,0 wird die Dissoziation der Carboxylgruppen unterdrückt, sodass nur noch Sulfatgruppen die negative Komponente für die Bindung von Alcianblau 8GX darstellen (Scott und Dorling 1965). Hier treten stark sulfatierte Muzine, Glykosaminglykane etc. leuchtend blau in Erscheinung.

Färbeverfahren:

1. Entparaffinieren bis Aqua dest.	
2. Einstellen in 3%ige Essigsäure	3 min.
3. Färben in 1% Alcianblau pH 2,5 bzw. pH 1,0	30 min.
4. Abspülen in 3%iger Essigsäure (pH 2,5) bzw. 0,1N HCl (pH 1,0)	
5. Waschen in Aqua dest.	
6. Gegenfärbung mit Kernechtrot	3-5 min.
7. Waschen in Aqua dest.	
8. Entwässern, Xylol, Eukitt®	

3.1.6. Ermittlung des mittleren Durchmessers der Langerhans-Inseln und deren Verteilung innerhalb der Schenkel

Bei der Auswertung des endokrinen Anteils der Bauchspeicheldrüse des Straußes wurden zusätzlich noch die Pankreasinseln in den verschiedenen Schenkeln bei gleichmäßiger Geschlechterverteilung vermessen und in kleine, mittelgroße, große und riesige Inselzellverbände semiquantitativ eingeteilt. Kleine Inseln wurden in Größenordnungen bis 100 µm definiert, mittelgroßen Inseln wurden 100 – 250 µm große Insel-Durchmesser zugeteilt. Große Inseln beinhalteten 250 – 400 µm große Inseln und Riesen-Inselzellaggregate bestanden aus Zellgruppen bis zu 600 µm Durchmesser. Dafür wurden bei 6 Tieren in allen drei Pankreasschenkeln je 10 Gesichtsfelder (Objektiv 40x) beurteilt, die Pankreasinseln vermessen und den vier Inselzellverbänden zugeteilt. Die Ergebnisse wurden in Microsoft Excel® erstellt und ausgewertet. Anschließend wurde der Mittelwert (prozentualer Anteil) der unterschiedlich großen Zellverbände innerhalb der einzelnen Schenkel ermittelt und die Standardabweichung bestimmt.

3.2. Glykohistochemische Untersuchungen

3.2.1. Vorgehensweise

Für die glykohistochemischen Untersuchungen wurden für jedes Lektin 5 µm dicke, entparaffinierte Schnitte verwendet. Zusätzlich wurde je Färbung eine Negativ- und eine Positivkontrolle durchgeführt. Die Schnitte entstammten allen Bereichen des Straußenpankreas.

Für den Nachweis von Kohlenhydratstrukturen im Pankreasgewebe wurden 16 verschiedene Lektine (Fa. Sigma-Aldrich, Steinheim) eingesetzt. Dabei wurden 13 mit dem Farbstoff Fluoreszein-Isothiocyanat (FITC) konjugierte Pflanzenlektine verwendet. Das Prinzip beruht auf einer direkten Nachweismethode, wobei das mit Fluoreszein konjugierte Lektin direkt an den Zucker bindet. Weiters wurden 3 biotinylierte Lektine (Fa. Vector, Burlingame, USA) eingesetzt. Bei dieser indirekten Methode wurden die Schnitte mit einem Biotin-gekoppelten Lektin behandelt und anschließend in einer Streptavidin-FITC-Lösung inkubiert. Die Bindung von Avidin an Biotin an den Lektinen zeigt sich durch Fluoreszenz der Bindungsstellen der Lektine im Gewebe.

Folgende Kontrollen wurden für den Spezifitätsnachweis der Lektinbindung durchgeführt. Bei den Negativkontrollen wurde anstelle des Lektins eine PBS-Pufferlösung aufgetragen.

Die Positivkontrolle erfolgte mit einer Gewebeprobe, bei der eine positive Reaktion mit dem entsprechenden Lektin bekannt ist. Für die Lektine ConA, LCA, PSA, PNA, GSL-1, WGA, WGAs, UEA-1, PHA-E und PHA-L wurden Schnitte vom Nebenhoden des Hundes herangezogen, für die Lektine RCA und SBA Schnitte vom Hoden des Rindes. Präparate vom Ovar des Rindes dienten der Lektinuntersuchung von MAL-1 und SNA, das Ovar des Schweines für DBA und die Niere des Rindes für SJA.

Zum Nachweis der Lektinbindung wurde ein Auflichtfluoreszenzmikroskop Dialux 20 (Fa. Leitz GmbH, Wetzlar) mit angeschlossener ProgRes® Kamera (Fa. Jenaoptik, Jena) verwendet.

3.2.2. Hemmzuckertests

Zusätzlich wurden bei den stark positiv reagierenden FITC-gekoppelten Pflanzenlektinen ConA, LCA, PSA, RCA, WGA, WGAs, UEA-1, PHA-E und PHA-L Hemmzuckertests zur Bewertung der Spezifität gemacht, wobei der jeweilige in PBS-Puffer gelöste Hemmzucker (Fa. Sigma-Aldrin, Steinheim) mit dem Lektin 30-60 min. vorinkubiert wurde und auf die Objektträger aufpipettiert wurde. Dadurch wurde die Bindung der Lektine an den Farbstoff kompetitiv gehemmt und somit die Spezifität der jeweiligen Lektinbindung nachgewiesen. Die jeweilige Konzentration der spezifischen Hemmzucker ist in *Tab. 5* angegeben. Die weitere Verfahrensweise entsprach der bereits beschriebenen Methode in *Kapitel 3.2.1*. Anstelle des reinen Lektins wurde hier das Lektin-Hemmstoff-Gemisch aufpipettiert.

Tab. 4 Übersicht über die verwendeten Pflanzenlektine, deren Herkunft, Zuckerspezifität und spezifische Hemmzucker

Lektin		Herkunft	Zucker-spezifität	Hemmung
ConA	<i>Concanavalin Agglutinin</i>	Schwertbohne	Man/Glc	Methyl- α -Mannopyranoside ¹
LCA	<i>Lens culinaris Agglutinin</i>	Linse	Man/Glc	
PSA	<i>Pisum sativum Agglutinin</i>	Erbse	Man/Glc	
RCA	<i>Ricinus communis Agglutinin</i>	Rizinusstaude	Gal	Methyl- α -Galactopyranoside ²
PNA	<i>Peanut Agglutinin</i>	Erdnuss	Gal	
GSL-1	<i>Griffonia simplicifolia Agglutinin I</i>	Afrikanische Schwarzbohne	GalNAc	
DBA	<i>Dolichos biflorus Agglutinin</i>	Pferdebohne	GalNAc	N-Acetyl-D-Galaktosamin ²
SBA	<i>Soybean Agglutinin</i>	Sojabohne	Gal/GalNAc	
WGA	<i>Wheat germ Agglutinin</i>	Weizenkeim	GlcNAc/NeuNAc	N-Acetyl-D-Glukosamin ²
WGAs	<i>Wheat germ Agglutinin succinyliert</i>	Weizenkeim	GlcNAc *	
UEA-1	<i>Ulex europaeus Agglutinin-I</i>	Stechginstersamen	Fuc	α -L-Fucose
MAL-1	<i>Maackia amurensis Leukoagglutinin I</i>	Asiatisches Gelbholz	**	
SJA	<i>Sophora japonica Agglutinin</i>	Chinesischer Schnurbaum	GalNAc	N-Acetyl-D-Galaktosamin ²
SNA	<i>Sambucus nigra</i>	Schwarzer Holunder	Gal/ GalNAc	
PHA-E	<i>Phaseolus vulgaris Erythroagglutinin</i>	Gartenbohne	**	Essigsäure ³
PHA-L	<i>Phaseolus vulgaris Leukoagglutinin</i>	Gartenbohne	**	

Grau unterlegte Zeilen enthalten biotinylierte Lektine.

Man = D-Mannose, **Glc** = D-Glukose, **Gal** = D-Galaktose, **GalNAc** = N-Acetyl-D-Galaktosamin, **GlcNAc** = N-Acetyl-D-Glukosamin, **NeuNAc** = N-Acetyl-D-Neuraminsäure, **Fuc** = L-Fucose

*WGAs: bei physiologischem pH-Wert negativ geladen, WGA: positiv geladen

WGAs bindet nicht an Glykokonjugate, die N-Acetyl-D-Neuraminsäure enthalten, bindet aber an N-Acetyl-D-Glukosamin enthaltende Glykokonjugate. Somit kann der N-Acetyl-D-Neuraminsäuregehalt ermittelt werden (Monsigny et al. 1980)

**keine Spezifität für Monosaccharide bekannt

Tab. 5 Konzentration der Lektine und der verwendeten Hemmzucker mit entsprechenden Inkubationszeiten und Positivkontrollen

Lektin	Positivkontrolle	Konzentration Lektin	Konzentration Hemmzucker	Inkubationszeit
ConA	Nebenhoden Hund	2 µg/ml	84,8 mg/ml	60 min.
LCA	Nebenhoden Hund	5 µg/ml	84,8 mg/ml	60 min.
PSA	Nebenhoden Hund	5 µg/ml	84,8 mg/ml	60 min.
RCA	Hoden Rind	5 µg/ml	84,8 mg/ml	60 min.
PNA	Nebenhoden Hund	5 µg/ml		
GSL-1	Nebenhoden Hund	10 µg/ml		
DBA	Ovar Schwein	5 µg/ml		
SBA	Hoden Rind	5 µg/ml		
WGA	Nebenhoden Hund	2 µg/ml	1:4	30 min.
WGAs	Nebenhoden Hund	5 µg/ml	1:4	30 min.
UEA-1	Nebenhoden Hund	5 µg/ml	84,8 mg/ml	60 min.
MAL-1	Ovar Rind	10 µg/ml		
SJA	Niere Rind	20 µg/ml		
SNA	Ovar Rind	10 µg/ml		
PHA-E	Nebenhoden Hund	5 µg/ml	24 µl/ml	60 min.
PHA-L	Nebenhoden Hund	5 µg/ml	24 µl/ml	60 min.

Färbeverfahren:

1. Xylol	10 min.
2. Xylol	10 min.
3. Absteigende Alkoholreihe bis Aqua dest.	
4. 3 x in PBS-Puffer waschen	je 5 min.
5. Lektin-Verdünnungen herstellen:	
• WGA/ConA: 1 ml PBS mit 1 µl Lektin verdünnen	
• GSL-1: 1 ml PBS mit 5 µl Lektin verdünnen	
• Alle übrigen nicht-biotinylierten Lektine 1 ml PBS mit 2,5 µl Lektin verdünnen	
• SJA: 1 ml PBS mit 10 µl Lektin verdünnen	
• Alle übrigen biotinylierte Lektine: 1 ml PBS mit 5 µl Lektin verdünnen	
6. Objektträger in Inkubationskammern einbringen und mit jeweils 100 µl der Lektin-Verdünnungen beträufeln	
7. Abgedunkelt bei Raumtemperatur inkubieren	60 min.
8. 3 x in PBS-Puffer waschen	je 5 min.
9. Kernfärbung mit Dapi (VECTOR, Burlingame, USA)	
10. Deckglas mit Nagellack auf Objektträger fixieren	

3.3. Immunhistochemische Untersuchungen

Im Zuge der Immunhistochemischen Untersuchungen wurden „smooth muscle actin“ und Myosin als Teil der Strukturproteine des Zytoskeletts und Tubulin als Untereinheit von Proteinen der Mikrotubuli untersucht. Weiters wurden die Intermediärfilamente Vimentin und Cytokeratine und als spezifische Hormone des Pankreas wurden zusätzlich noch Insulin und Glukagon immunhistochemisch nachgewiesen.

In den immunhistochemischen Untersuchungen wurden Proben von allen 10 Tieren verwendet. Dabei wurde die ABC (Avidin-Biotin-Complex)-Methode (Hsu et al. 1981; Guesdon et al. 1979), eine indirekte Immunmarkierung, verwendet. Bei jedem Versuchsdurchlauf wurde zur Überprüfung der Spezifität der Ergebnisse eine Positiv- und Negativkontrolle mitgeführt. Die ABC-Methode basiert auf der hohen Bindungsfähigkeit des Glykoproteins Avidin mit dem Vitamin Biotin, wobei Avidin vier Moleküle von Biotin binden kann. Streptavidin, ein aus dem Bakterium *Streptomyces avidinii* isoliertes Produkt, ersetzt hier Avidin. Ein biotinylierter Sekundärantikörper bildet das Bindeglied zwischen dem Primärantikörper und dem Komplex aus Streptavidin und einer biotinylierten Peroxidase. Die frei bleibenden Biotin-Bindungsstellen am Molekül können nun mit dem Biotin des Sekundärantikörpers reagieren. Im Anschluss wird die Enzymaktivität der Peroxidase durch DAB¹⁶ als brauner Färbung der Produkte sichtbar gemacht.

Durchführung:

Nach der Entparaffinierung und der Rehydrierung durch eine absteigende Alkoholreihe wurden die Schnitte zunächst wie folgt beschrieben in A. dest. und PBS-Puffer gewaschen. Bei manchen immunhistochemischen Nachweisen war eine Vorbehandlung (Antigen-Retrieval) der Gewebeschnitte zur Antigen-Demaskierung notwendig. Durch Vernetzung der Proteine durch Formalin ergibt sich oft ein erschwerter Zugang der Antikörper zu den Epitopen der Antigenoberfläche, sodass eine Vorbehandlung (z.B. Mikrowelle, Autoklav, Dampfkochtopf, enzymatische Vorbehandlung) notwendig ist. Beim Nachweis von Vimentin wurden die Schnitte mit einer 0,1%igen Protease (10 min. bei RT) vorbehandelt. Beim Cytokeratin-Nachweis wurden die Schnitte einer Vorbehandlung mit Trypsin (20 min. bei RT) unterzogen und dem Tubulin-Nachweis ging eine Mikrowellenbehandlung mit einem Citratpuffer (3x10 min. mit anschließender 20 min. Abkühlung bei RT) voraus.

Anschließend erfolgte bei allen Schnitten eine Hemmung der endogenen Peroxidase. Daraufhin wurde ein Protein Block Free Serum auf die Objektträger aufgebracht, um eventuelle Proteinverschmutzungen und somit unspezifische Bindungen zu vermeiden. Das Protein Block Free Serum blockt im Zuge dessen diese unspezifischen Proteine, um eine unspezifische Bindung der Antikörper zu vermeiden. Anschließend wurde ein mit Biotin markierter Antikörper aufgetragen. An das Biotin kann Avidin binden, welches wiederum drei weitere Kopplungsstellen besitzt. Als Bindungspartner und somit Marker wurde ein HRP-Komplex¹⁵ (Horseradish Peroxidase = Meerrettichperoxidase) verwendet, welcher durch einen Sekundärantikörper seinerseits mit Biotin gekoppelt ist. Die Peroxidase spaltet dann die zugegebene 30%ige Wasserstoffperoxidlösung in H_2O und O_2 . Das O_2 spaltet daraufhin das zugeführte 3,3-Diaminobenzidin (DAB-Hydrogenperoxidlösung, Fa. Kem En Tec Diagnostics, Taastrup) zu einem braunen Farbkomplex, wodurch die chemische Reaktion sichtbar gemacht wird. Bei der Negativkontrolle wurde nur die Verdünnungslösung (Antibody Diluent with Background-Reducing Components, Dako, Hamburg) ohne Primärantikörper aufgetragen, der weitere Versuchsablauf blieb jedoch derselbe. Als Positivkontrolle wurde ein Schnitt ausgewählt, von dem ein positives Ergebnis für die jeweilige immunhistologische Färbung bekannt war.

Tab. 6 Übersicht über die verwendeten Primär- und Sekundär-AK

Primär-AK	Herkunft Primär-AK	Hersteller Primär-AK	Inkubation und Verdünnung	Sekundär-AK	Inkubation und Verdünnung
α – SMA	Maus	Dako, Heidelberg	1:40 1 Std. bei RT	Anti Maus IgG biot. vom Kaninchen (Dako)	1:300 30 min. bei RT
Myo	Kaninchen	Abcam, Cambridge	1:250 über Nacht bei 6°C	Anti Kaninchen IgG vom Schwein (Dako)	1:300 30 min. bei RT
PanCK	Maus	Biocarta, Hamburg	1:100 über Nacht bei 6°C	Anti Maus IgG vom Kaninchen (Dako)	1:300 30 min. bei RT
Tub	Maus	Abcam, Cambridge	1:400 über Nacht bei 6°C	Anti Maus IgG biot. vom Kaninchen (Dako)	1:300 30 min. bei RT
Vim	Maus	Dako, Heidelberg	1:500 über Nacht bei 6°C	Anti Maus IgG biot. vom Kaninchen (Dako)	1:300 30 min. bei RT
Ins	Maus	Abcam, Cambridge	1:200 über Nacht bei 6°C	Anti Maus IgG biot. vom Kaninchen (Dako)	1:300 30 min. bei RT
Glu	Ziege	Acris	1:200 über Nacht bei 6°C	Anti Goat IgG vom Kaninchen (Dako)	1:300 30 min. bei RT

α -SMA = „ α -smooth-muscle-actin“, **Myo** = Myosin, **Vim** = Vimentin, **CK** = Cytokeratine, **Tub** = Tubulin, **Ins** = Insulin, **Glu** = Glukagon

Färbeverfahren:

1. Xylol	10 min.
2. Xylol	10 min.
3. Absteigende Alkoholreihe bis Aqua dest.	
4. 3 x in PBS-Puffer waschen	je 5 min.
5. Hemmung der endogenen Peroxidase mittels 50 ml Hydrogenperoxid plus 150 ml Aqua dest.	10 min.
6. Auswaschen in fließendem Leitungswasser	10 min.
7. 3 x in PBS-Puffer waschen	je 5 min.
8. Dako Protein Block Serum-Free ⁷ , anschließend abgießen	10 min.
9. Primär-Antikörper in Antibody Diluent ⁷ applizieren und über Nacht im Kühlschrank inkubieren	
10. 3 x in PBS-Puffer waschen	je 5 min.
11. Anti IgG (Sekundärantikörper) (s. Tab. 6)	30 min.
12. 3 x in PBS-Puffer waschen	je 5 min.
13. Streptavidin-Biotin Horseradish Peroxidase Complex ⁷	30 min.
14. 3 x in PBS-Puffer waschen	je 5 min.
15. DAB-Hydrogenperoxidlösung ¹⁶	8 min.
16. Kurz in PBS und Leitungswasser waschen	
17. Kerne mit Hämalun gegenfärben	30 sek.
18. In Leitungswasser wässern	10 min.
19. Entwässern, Xylol, Eukitt®	

3.4. Elektronenmikroskopische Untersuchungen

Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen des Straußenpankreas wurden von allen Pankreasschenkeln aller untersuchter Tiere je vier 1x1x1mm große Würfel mittels zwei gegenlaufenden Skalpellklingen entnommen und im Zuge einer Immersionsfixierung in eine frisch angefertigte Gebrauchslösung nach Karnovsky überführt.

Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden Proben von 5 Tieren zur Auswertung herangezogen. Die Gewebeproben wurden nach der Fixierung dreimal in 0,1M Natriumcacodylatlösung (pH 7,2) gewaschen. Anschließend erfolgte eine zweistündige Vorkontrastierung in 1%igem Osmiumtetroxid und 1,5%igem Kaliumferrocyanid. Dann wurden die Proben erneut dreimal in 0,1M Natriumcacodylatlösung (pH 7,2) gewaschen. Die fixierten Gewebeproben wurden bei Raumtemperatur auf einen Rüttler (Fa. Gerhardt, Bonn) gestellt, sodass die Fixierungslösung bis in die innersten Schichten vordringen konnte. Die bisher genannten Schritte der Inkubation erfolgten bei 4°C.

Anschließend erfolgte eine Entwässerung mittels einer aufsteigenden Alkoholreihe je 20 min. in 30%igem und 50%igem Alkohol, dann je 30 min. in 70%igem, 90%igem und absolutem Alkohol. Daraufhin verblieben die Proben 2x 15 min. in Propylenoxid und anschließend wurden sie in eine Mischung aus Poly/Bed® 812-BDMA Embedding Kit¹¹ - Propylenoxid (im Nachfolgenden Polyembed-Propylenoxid genannt) im Verhältnis 1:2 für eine Stunde inkubiert. Als nächstes erfolgte eine erneute Inkubation in Polyembed-Propylenoxid im Verhältnis 1:1 über Nacht.

Für die Kunstharzeinbettung wurde das Pankreasgewebe am darauffolgenden Tag für eine Stunde in reines Polyembed auf einem Rüttler inkubiert, anschließend zum Einbetten in Silikonformen gefüllt und schließlich im Wärmeofen 18-24 Std. bei 60°C ausgehärtet. Im Anschluss daran konnten die Proben vorsichtig aus den Flachbettformen herausgelöst werden.

Es wurden zunächst Semidünnschnitte am Ultramikrotom (Ultracut E, Fa. Reichert-Jung, Wien) angefertigt. Anschließend wurde nach dem Färbeverfahren nach Richardson (Richardson et al. 1983) angefärbt. Nach Auswahl eines optimalen Abschnittes wurden die Schnitte stark zugetrimmt und im Anschluss

Ultradünnschnitte am Ultramikrotom mit Schnittdicken zwischen 40-60 nm angefertigt. Diese Ultradünnschnitte wurden dann auf sog. Grids (Kupfernetze) aufgefangen.

Sie wurden daraufhin mit Uranylacetat und Bleicitrat nachkontrastiert (Reynolds 1963). Während Bleicitrat Ribosomen und Zytoplasmagrundsubstanzen kontrastiert, färbt Uranylacetat Membranen und besonders Kernchromatin. Für die Kontrastierung wurde 80 – 100 µl Uranylacetat auf eine Haftplatte für jeden Grid pipettiert und für mindestens 20 min. inkubiert. Anschließend wurden die Schnitte dreimal in Aqua dest. gewaschen und kurz auf Filterpapier getrocknet. Die Grids wurden dann auf eine zweite Haftplatte platziert und mit Bleicitrat kontrastiert. Dafür wurden 80 – 100 µl Bleicitrat auf die Grids getropft. Die Kontrastierung erfolgte maximal 3-5 min. Anschließend wurden die Schnitte erneut dreimal in Aqua dest. gewaschen und auf Filterpapier getrocknet.

Die Auswertung und Fotodokumentation der Ultradünnschnitte erfolgte am Transmissionselektronenmikroskop EM 902 (Fa. Carl Zeiss, Oberkochen).

IV. ERGEBNISSE

1. Makroskopische Untersuchungen am Pankreas des Straußes

Das Pankreas des Straußes liegt im rechten Teil der Abdominalhöhle und ist zwischen den beiden Schenkeln des Duodenums eingelagert. Die Bauchspeicheldrüse erstreckt sich vom Muskelmagen bis annähernd zum Ende der Duodenalschleife. Die Farbe dieses Organs ist blassrosa bis teils kräftig rosa.

Das Pankreas kann in drei Lappen unterteilt werden, wobei die einzelnen Lappen wiederum unregelmäßig gelappt sind, sodass eine genaue Grenzziehung der Regionen schwer möglich ist. Es lässt sich in einen Dorsalschenkel, Ventralschenkel und Splenalschenkel untergliedern. Der Dorsalschenkel (Lobus pancreatis dorsalis) ist dabei der längste Schenkel und verläuft parallel mit dem absteigenden Teil des Duodenums (Pars descendens duodeni). Der etwas kürzere Ventralschenkel (Lobus pancreatis ventralis) folgt dem aufsteigenden Duodenalteil (Pars ascendens duodeni). Der dritte Schenkel ist bei den untersuchten Tieren dem Lobus pancreatis dorsalis zur offenen Seite der Duodenalschleife angegliedert und ist relativ klein.

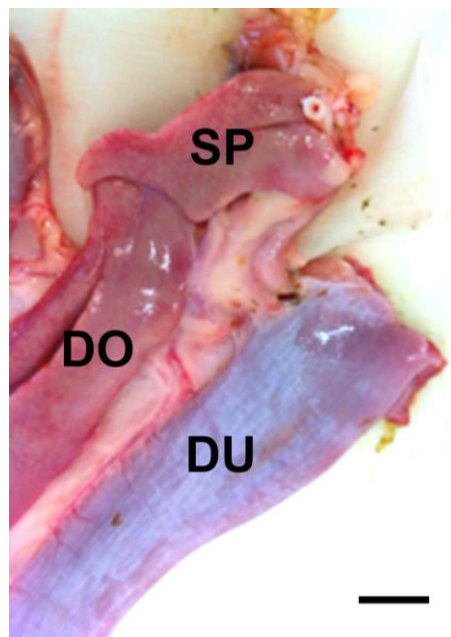


Abb. 4 Pankreas Strauß, männlich, 14 Monate. Der Splenalschenkel (SP) grenzt am Dorsalschenkel (DO) an. DU = absteigender Duodenalteil

SB = 2 cm

Bezüglich des Gewichts und der Maße der einzelnen Pankreasschenkel konnten zwischen männlichen und weiblichen Tiere keine signifikanten Unterschiede ausgemacht werden. Das Gewicht der Dorsalschenkel der untersuchten Tiere betrug im Mittel 60,8g ($\pm 11,2$), das Gewicht der Venteralschenkel 21,6g ($\pm 5,3$) und die Splenalschenkel wogen durchschnittlich 12,4g ($\pm 2,8$). Das insgesamt durchschnittliche Pankreasgewicht der untersuchten Strauße betrug somit 94,8g ($\pm 13,8$).

Tab. 7 Gewicht der einzelnen Pankreasschenkel aller untersuchten Tiere

Tier-nummer	Geschlecht	Gewicht in Gramm			Summe
		Dorsal-schenkel	Ventral-schenkel	Splenal-schenkel	
1	weiblich	58	22	12	92
2	männlich	64	24	16	104
3	weiblich	68	18	10	96
4	weiblich	70	26	14	110
5	männlich	62	22	14	98
6	weiblich	56	20	12	88
7	männlich	74	34	6	114
8	männlich	72	14	16	102
9	weiblich	48	18	12	78
10	männlich	36	18	12	66
Mittelwert		60,8	21,6	12,4	94,8
Standardabweichung		11,2	5,3	2,8	13,8

Die durchschnittliche Länge der Dorsalschenkel lag bei 37,6 cm ($\pm 6,1$), ihre mittlere Breite bei 2,6 cm ($\pm 0,5$) und die Höhe dieses Organteils wies im Mittel 1,3 cm ($\pm 0,5$) auf. Der Venteralschenkel maß durchschnittlich 18,9 cm ($\pm 3,7$) (L) x 1,7 cm ($\pm 0,2$) (B) x 1,0 cm ($\pm 0,1$) (H). Die mittleren Maße der Milzschenkel betrug 8,0 cm ($\pm 2,0$) (L) x 2,1 cm ($\pm 0,3$) (B) x 1,0 cm ($\pm 0,2$) (H).

Tab. 8 Größe der einzelnen Pankreasschenkel aller untersuchten Tiere

Tier-Nr.	Geschlecht	Größe in cm								
		Dorsalschenkel			Ventralschenkel			Splenalschenkel		
		Länge	Breite	Höhe	Länge	Breite	Höhe	Länge	Breite	Höhe
1	weiblich	30,6	3	1,2	14,5	1,7	0,8	11,2	1,9	0,9
2	männlich	42	2,1	2	22,1	2,1	1,2	7	2,3	0,8
3	weiblich	36,5	2,9	0,9	16,6	1,8	1,1	7,5	2	1,2
4	weiblich	39,2	2,6	1,5	17,2	1,5	0,9	8,3	1,8	1
5	männlich	25,5	3,3	2,2	21	1,9	1,1	3,4	2,1	0,9
6	weiblich	38,1	2,7	1	16,9	1,7	1,1	8,1	2,6	0,9
7	männlich	41,5	2,2	1,1	25,6	1,7	1,1	7,6	1,6	0,7
8	männlich	32,5	3,2	1,1	13	1,6	1,1	8,2	2,4	0,9
9	weiblich	46	2,4	0,7	20	2	0,9	10,4	1,9	1
10	männlich	43,6	1,9	1,2	22	1,4	0,9	8,5	2,1	1,4
Mittelwert		37,6	2,6	1,3	18,9	1,7	1,0	8,0	2,1	1,0
Standard-abweichung		6,1	0,5	0,5	3,7	0,2	0,1	2,0	0,3	0,2

Das Pankreas weist beim Strauß einen Hauptausführungsgang auf, der in die Papilla duodenalis des Dünndarms mündet.

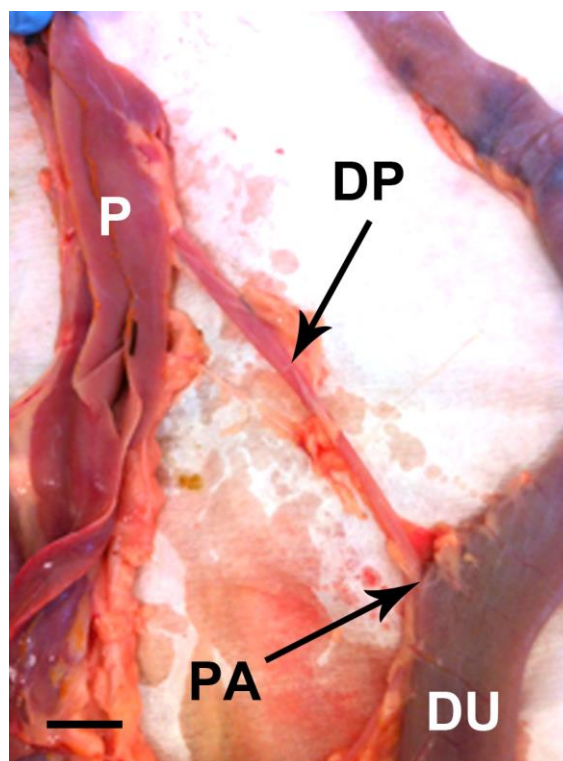


Abb. 5 Pankreas Strauß, 14 Monate. Der Ductus pancreaticus (DP) zieht vom Pankreas (P) zum Duodenum (DU) und mündet dort in der Papilla duodeni (PA).

SB = 2 cm

Die Blutversorgung erfolgt über die A. pancreaticoduodenalis, welche einzelne Äste (Rami pancreatici) an die einzelnen Lappen der Bauchspeicheldrüse entsendet. Der venöse Abfluss erfolgt über die V. gastropancreaticoduodenalis in die Pfortader der Leber.

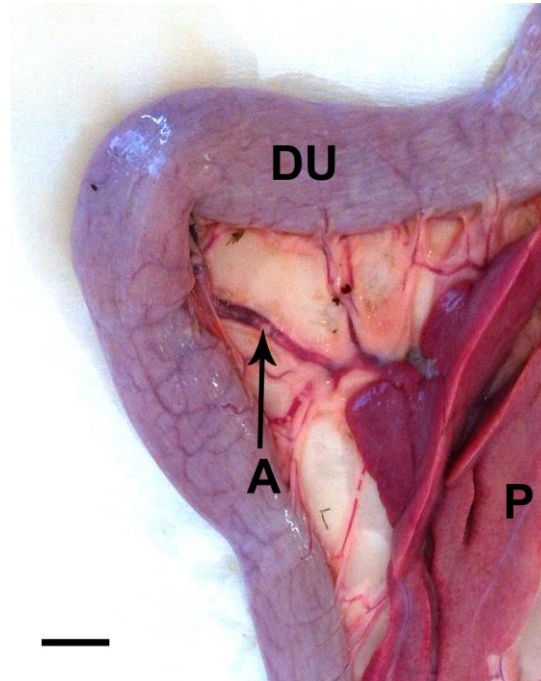


Abb. 6 Pankreas Strauß, 14 Monate, männlich, Blutversorgung

Die Äste der A. pancreaticoduodenalis (A) versorgen den Pankreasschenkel (P).

DU = Duodenum

SB = 3 cm

2. Lichtmikroskopische Färbungen

2.1. Übersichtsfärbungen

2.1.1. Exokrines Pankreas

Das Pankreas des Straußes ist von einer bindegewebigen Kapsel umhüllt (Abb. 8). Das Bindegewebe besitzt eine lockere Struktur und entlässt Septen ins Innere des Pankreasgewebes (Abb. 10). Sie verlaufen zwischen den einzelnen Drüsenazini und geben diesen je nach Stärke der Fasern eine lockere bis straffere Anordnung. Bei allen Übersichtsfärbungen stellt sich die Bauchspeicheldrüse als tubuloalveoläre Drüse mit deutlicher Läppchenstruktur dar. Die Azini sind unterschiedlich groß und unregelmäßig angeordnet. Somit zeigen sich bei den verschiedenen Anschnitten unterschiedliche Ebenen der Gewebsstrukturen. Die

durch Bindegewebe verbundenen Läppchen enthalten sowohl Azini als auch Schaltstücke (Ductus intercalatus) mit ihren organotypischen Zentroazinären Zellen (ZAZ). Die Azinuszellen des exokrinen Pankreasgewebes erscheinen in einer hochprismatischen bis pyramidenähnlichen Form und umgeben ein enges zentrales Lumen. Sie besitzen eine zarte Basallamina. Die chromatinreichen Zellkerne der Azini liegen basal und weisen einen oder mehrere deutlich sichtbare Nucleoli auf. Die Region um die Zellkerne erscheint homogen und weist bei der HE-Färbung nach Mayer eine deutlich basophile Färbung auf. Die apikale Zone ist inhomogen und in der HE-Färbung teils sehr stark azidophil gefärbt (Abb.10). In dieser Region befinden sich deutlich erkennbare, körnig erscheinende Zymogengranula, die sich deutlich von ihrer Umgebung abheben (Abb. 11/13). Im Färbeverfahren nach Masson-Goldner zeigen sich die Sekretgranula hochrot (Abb. 12/14). Diese je nach Verdauungsaktivität unterschiedlich großen Vakuolen erreichen Durchmesser bis 1 μm (Abb. 14).

Die etwas kleineren Zentroazinären Zellen stellen sich heller als die Azinuszellen dar und befinden sich in den Anschnitten zentral im Lumen der Azini, der Zymogenzone zugewandt (Abb. 11). Sie besitzen keine Granula. Diese Zellen kennzeichnen sich durch einen gut sichtbaren Zellkern, der ein wenig heller und größer im Durchmesser erscheint als die Zellkerne der Azinuszellen. Die Nuclei weisen einen hellen Hof und einen oder mehrere Nucleoli auf.

Innerhalb der Drüsenazini befinden sich kleine Ductus intralobulares (Abb. 15). Sie besitzen ein plattes bis isoprismatisches einschichtiges Epithel und sind von einer sehr zarten Bindegewebsschicht umgeben. Ihr Zellkern ist flach bis rund. Zwischen den Drüsenazini verlaufen von Bindegewebe und dünnen glatten Muskelschichten umgebene Ductus interlobulares (Abb. 16-18). Sie weisen ein einschichtiges isoprismatisches Epithel mit rundlich erscheinenden hellen Zellkernen auf. Dieses Epithel wird mit Zunahme des Ganglumens höher, isoprismatische Zellen gehen langsam in hochprismatische Zellen über.

Die Wand der Hauptausführungsgänge verfügt über drei Schichten: eine stark gefaltete Schleimhautschicht mit hochprismatischen Zellen, eine innere longitudinale und eine äußere zirkuläre Muskelschicht, sowie eine bindegewebige Tunica adventitia (Abb. 19-21). Die hochprismatischen Zellen der großen Drüsenausführungsgänge haben eine stark ausgeprägte apikale Zone, wobei das ins Lumen der Gänge abgeschnürte, in der HE-Färbung azidophil erscheinende

Drüsensekret deutlich sichtbar ist.

Beim Strauß gibt es neben dem regulären exokrinen Pankreasgewebe auch noch kleinere exokrine Inseln, die meist in der Nähe von großen Drüsenausführungsgängen oder sogar intramural in deren Wände liegen (Abb. 25) und denselben strukturellen Aufbau besitzen wie das übrige Gewebe. Zusammen mit den Ausführungsgängen befinden sich im Bindegewebe zwischen den Drüsenazini auch zahlreiche Blutgefäße, Nervenfasern und auch vereinzelt Ganglien. Die großen Nervenfaserbündel sind durch das Perineurium vom kollagenen Bindegewebe des Epineuriums abgegrenzt (Abb. 26). Die Arterien (Abb. 23/24) sind durch ein einschichtiges Endothel gekennzeichnet. Des Weiteren bestehen sie aus mehreren Lagen glatter Muskulatur und sind schließlich von einer angrenzenden mehrschichtigen Bindegewebsschicht umgeben. Die Venen (Abb. 23/24) kennzeichnen sich durch ein einschichtiges Endothel, einer dünnen Schicht glatter Muskelzellen und einer dünnen bindegewebigen Tunica externa. Zusätzlich befinden sich zwischen den Läppchen und auch in den Bindegewebssepten feine Blutkapillaren. Die in den Blutgefäßen enthaltenen Erythrozyten sind kernhaltig. Elastische Fasern konnten mit Hilfe der Resorcinfuchsin – van Gieson-Färbung lediglich im Endothel der Arterien nachgewiesen werden.

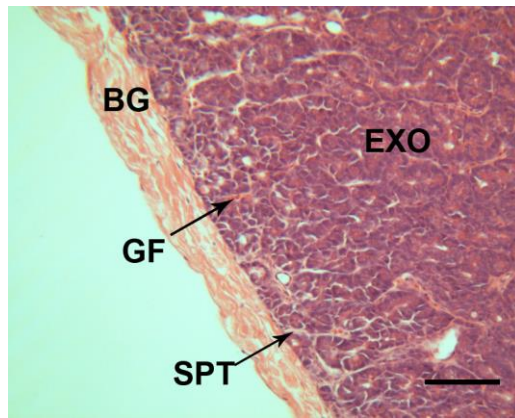


Abb. 7 Pankreas Strauß, exokrines Pankreasgewebe, Bindegewebskapsel, HE-Färbung

SB = 100 µm

Die Bindegewebskapsel (BG) umschließt das exokrine Pankreasgewebe (EXO) und gibt Bindegewebssepten (SPT) ins Innere des Organs ab, wodurch Drüsenazini entstehen. Innerhalb der Bindegewebssepten befinden sich kleine Blutgefäße (GF)

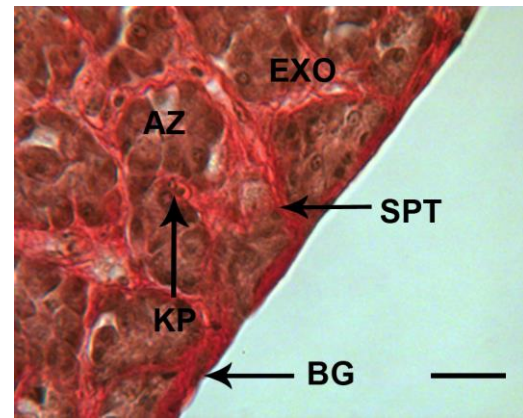


Abb. 8 Pankreas Strauß, exokrines Pankreasgewebe, Resorcin-fuchsin – van Gieson-Färbung

SB = 20 µm

Eine zarte Bindegewebschicht (BG) entlässt Bindegewebssepten (SPT) zwischen die Drüsenazini (AZ). Das miteinander kommunizierende Gewebsgeflecht unterteilt das exokrine Gewebe (EXO) in viele Drüsenazini und enthält viele Kapillaren (KP)

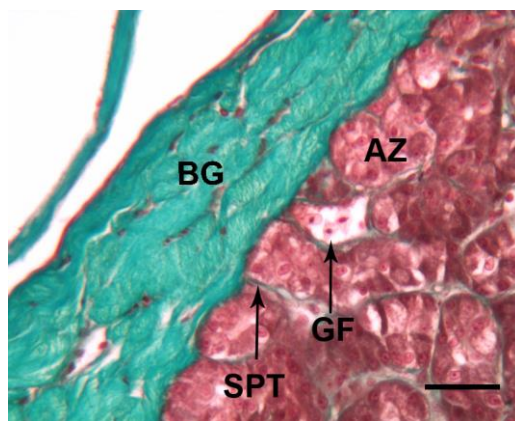


Abb. 9 Pankreas Strauß, exokrines Pankreasgewebe, Organkapsel, Masson-Goldner-Färbung

SB = 25 µm

Von der Bindegewebskapsel (BG) ziehen feine Bindegewebssepten (SPT) ins Innere des Organs zwischen die einzelnen Azini (AZ). Auch Gefäße (GF) sind darin eingebettet.

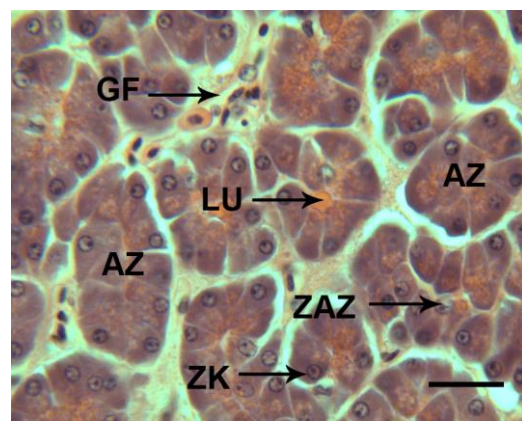


Abb. 10 Pankreas Strauß, exokrines Pankreasgewebe, Anordnung der Drüsenazini, HE-Färbung

SB = 20 µm

Zwischen den locker angeordneten Drüsenazini (AZ) liegen kleine Gefäße (GF). Im Lumen (LU) mancher Azini sind Zentroazinäre Zellen (ZAZ) sichtbar, teilweise ist auch azidophiles Drüsensekret zu erkennen. ZK = Zellkern

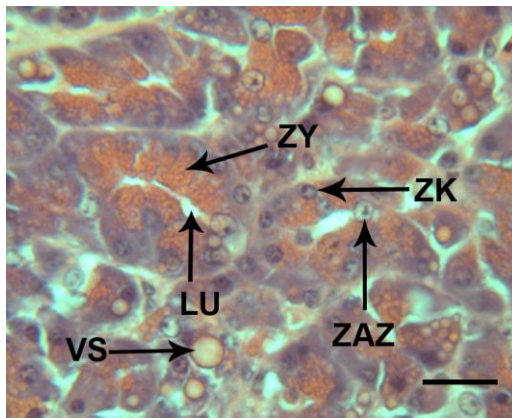


Abb. 11 Pankreas Strauß, exokrines Pankreasgewebe mit hoher sekretorischer Aktivität, HE-Färbung

SB = 20 µm

Die apikale Azidophilie durch die ausgeprägte Produktion von Zymogengranula (ZY) ist deutlich zu erkennen. Die basophile Zone enthält den Zellkern (ZK). Große Zymogenvesikel (VS) sind ebenfalls enthalten.

ZAZ = Zentroazinäre Zelle, LU = Lumen

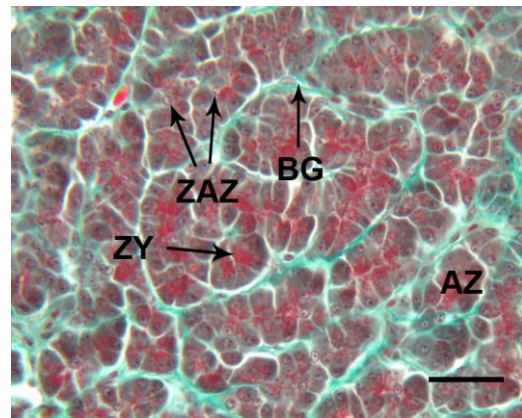


Abb. 12 Pankreas Strauß, exokrines Pankreasgewebe, Masson-Goldner-Färbung

SB = 20 µm

Die Zymogengranula (ZY) liegen im supranukleären Bereich der Azinuszellen und werden ins Lumen der Drüsenazini (AZ) abgegeben. Auch Zentroazinäre Zellen (ZAZ) sind dort tw. zu finden. BG = Bindegewebe

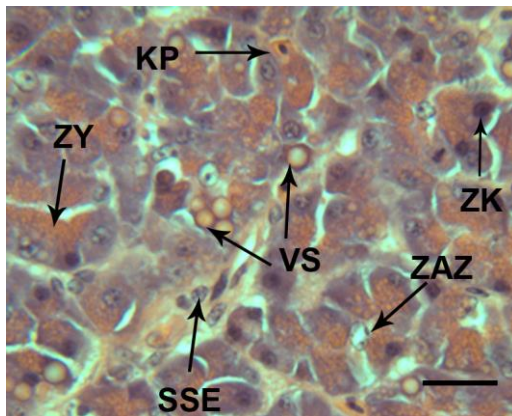


Abb. 13 Pankreas Strauß, exokrines Pankreasgewebe und Schaltstück, HE-Färbung

SB = 20 µm

Im Bindegewebe, das die Drüsenazini umgibt liegen kleine Kapillaren (KP). Die Schaltstückepithelzellen (SSE) stellen den Beginn des Ausführungsgangsystems dar und gehen in einen Ductus intralobularis über. ZY = Zymogenzone, VS = Vesikel, ZK = Zellkern, ZAZ = Zentroazinäre Zelle

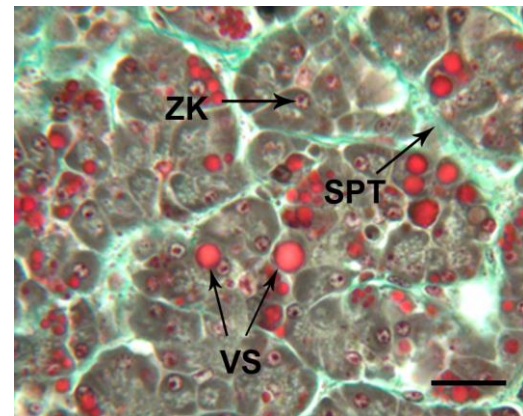


Abb. 14 Pankreas Strauß, exokrines Pankreasgewebe mit hoher Sekretaktivität, Masson-Goldner-Färbung

SB = 20 µm

In der Apikalzone der Azinuszellen liegen reife Zymogenvesikel (VS) unterschiedlicher Größe. Die Zellkerne (ZK) der Azinuszellen liegen in deren homogenem Basalbereich. SPT = Bindegewebsseptum

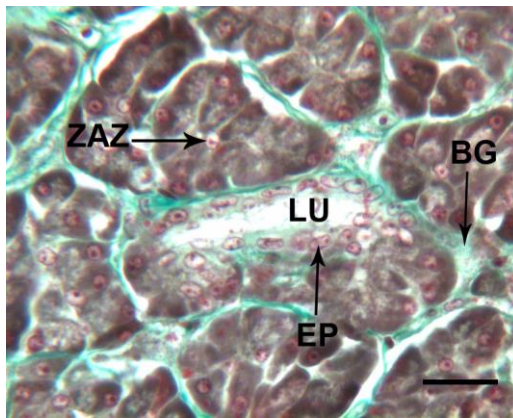


Abb. 15 Pankreas Strauß, exokrines Pankreasgewebe und Ductus intralobularis, Masson-Goldner-Färbung

SB = 20 µm

Der Ductus intralobularis mit seinem einschichtigen, isoprismatischen Epithel (EP) liegt im exokrinen Pankreasgewebe eingebettet. Er ist von einer feinen Bindegewebsschicht (BG) umhüllt. LU = Lumen des Ductus intralobularis, ZAZ = Zentroazinäre Zelle

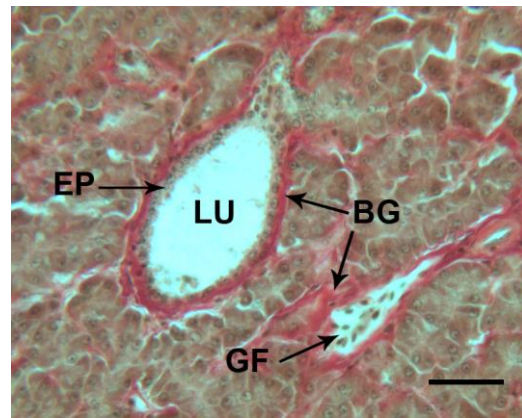


Abb. 16 Pankreas Strauß, Ductus interlobularis und Blutgefäß, Resorcin-fuchsin-van Gieson-Färbung

SB = 25 µm

Das einschichtige, isoprismatische Epithel (EP) eines Ductus intralobularis ist von einer dünnen Bindegewebsschicht (BG) zirkulär umgeben. Das Bindegewebe zieht zwischen die Drüsenzazini des exokrinen Pankreasgewebes und umschließt auch Blutgefäße (GF). LU = Lumen des Ductus intralobularis

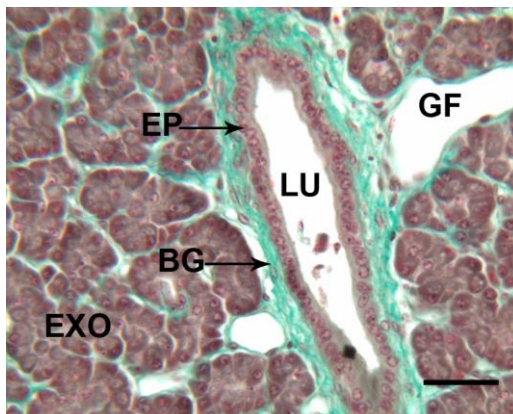


Abb. 17 Pankreas Strauß, Ductus intralobularis, Masson-Goldner-Färbung

SB = 25 µm

Das einschichtige isoprismatische Epithel (EP) eines größeren Ductus intralobularis ist von einer mehrschichtigen Bindegewebsschicht (BG) umgeben. Das Lumen (LU) des Ausführungsganges enthält Verdauungssekret. GF = Blutgefäß, EXO = exokrines Pankreasgewebe

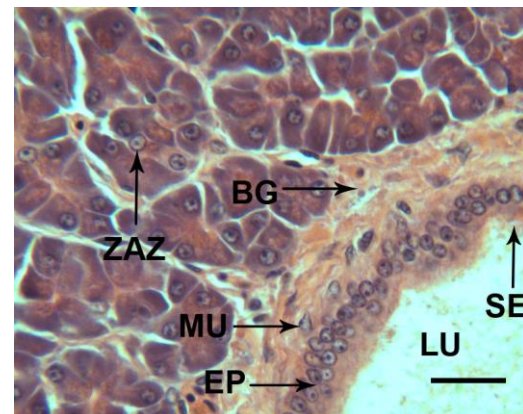


Abb. 18 Pankreas Strauß, Ductus interlobularis, HE-Färbung

SB = 20 µm

Das einschichtige, hochprismatische Epithel (EP) eines Ductus interlobularis ist von einer dünnen Schicht glatter Muskulatur (MU) und Bindegewebe (BG) umgeben. Am apikalen Zellpol ist die Abgabe des Verdauungssekrets (SE) ins Lumen (LU) erkennbar. ZAZ = Zentroazinäre Zelle

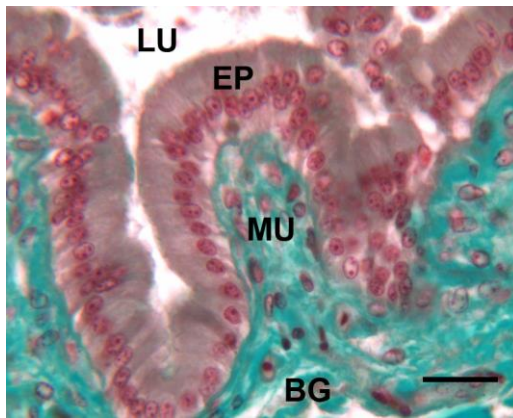


Abb. 19 Pankreas Strauß, Ductus interlobularis, Masson-Goldner-Färbung

SB = 25 µm

Das hochprismatische, gefaltete Epithel (EP) eines größeren Drüsenausführungsganges besitzt runde Zellkerne im basalen Bereich der Zelle. Das Verdauungssekret wird am apikalen Pol ins Lumen (LU) des Ganges abgegeben. MU = glatte Muskelzellen, BG = Bindegewebe

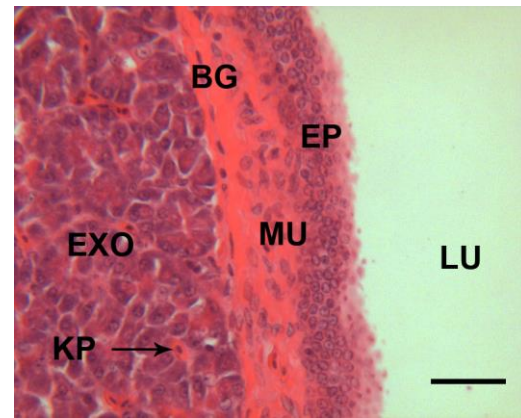


Abb. 20 Pankreas Strauß, großer Drüsenausführungsgang, HE-Färbung

SB = 25 µm

Das mehrschichtige Epithel (EP) eines größeren Drüsenausführungsganges sondert das Verdauungssekret ins Lumen (LU) ab. Das Epithel ist von mehreren Schichten glatter Muskulatur (MU) und Bindegewebe (BG) umgeben. KP = Kapillare, EXO = exokrines Pankreasgewebe

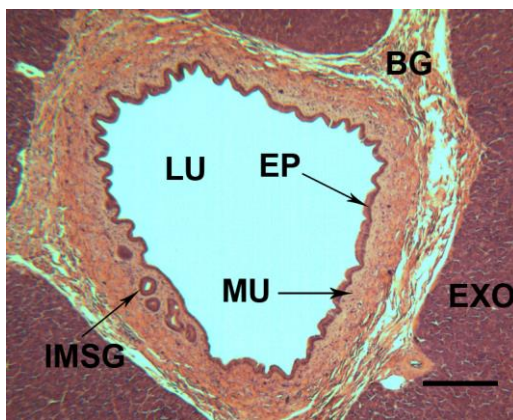


Abb. 21 Pankreas Strauß, großer Drüsenausführungsgang, HE-Färbung

SB = 200 µm

Der große Drüsenausführungsgang enthält ein einschichtiges hochprismatisches Epithel (EP) und mehrere Schichten glatte Muskulatur (MU) sowie Bindegewebe (BG). Innerhalb der Wand des Ausführungsganges befinden sich Anschnitte von kryptenähnlichen, intramuralen Sekretgängen (IMSG). LU = Lumen, EXO = exokrines Pankreasgewebe

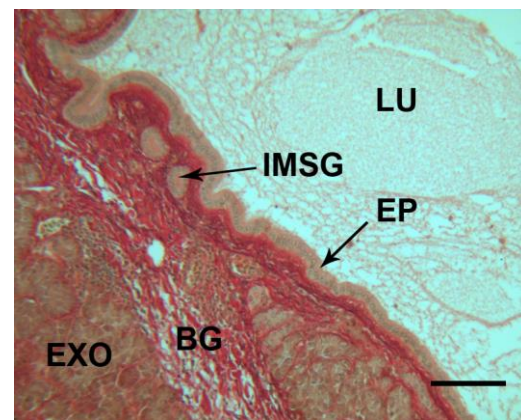


Abb. 22 Pankreas Strauß, großer Drüsenausführungsgang, Resorcin-fuchsin – van Gieson-Färbung

SB = 100 µm

Das aktive Epithel eines großen Ausführungsganges enthält hochprismatische Epithelzellen (EP) und wird von mehreren Lagen glatter Muskulatur und Bindegewebe (BG) umgeben. Im Lumen (LU) befindet sich der Bauchspeichel. EXO = exokrines Pankreasgewebe, IMSG = intramurale, kryptenähnliche Sekretgänge

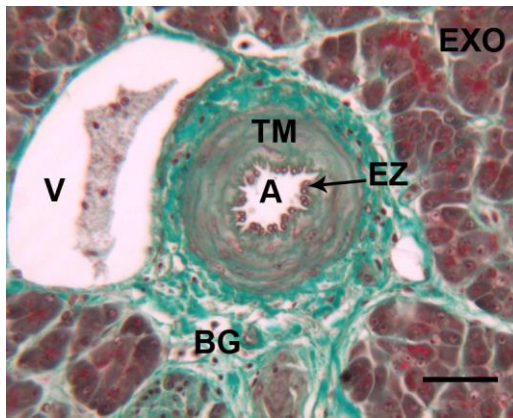


Abb. 23 Pankreas Strauß, Gefäße, Masson-Goldner-Färbung

SB = 25 µm

Die Arterie (A) ist von mehreren Schichten glatter Muskulatur (Tunica media = TM) und Bindegewebe (BG) umgeben. Sie enthält ein einschichtiges Endothel (EZ). Daran angrenzend liegt eine Vene (V) mit einer dünnen Schicht glatter Muskulatur und Bindegewebe. EXO = exokrines Pankreasgewebe

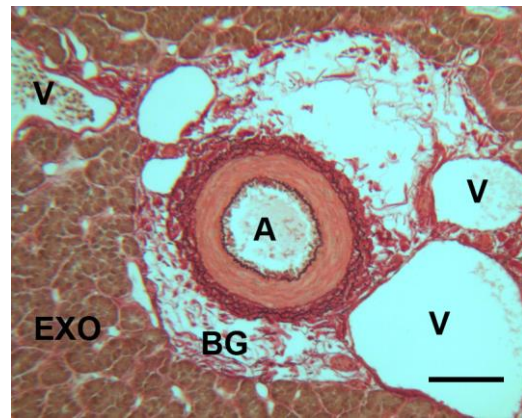


Abb. 24 Pankreas Strauß, Gefäße, Resorcinfuchsin – van Gieson-Färbung

SB = 100 µm

Die Arterie (A) liegt in einem weitläufigen lockeren Bindegewebe (BG) eingebettet. Daran grenzen mehrere Venen (V) an. EXO = exokrines Pankreasgewebe

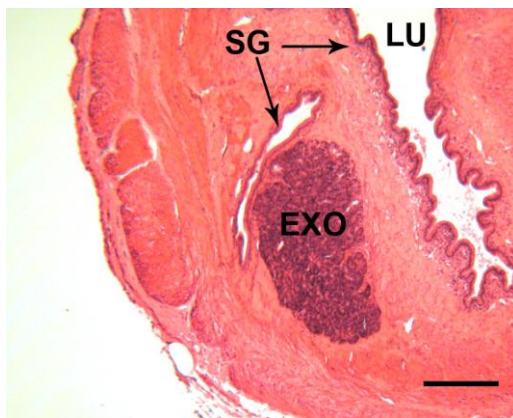


Abb. 25 Pankreas Strauß, intramurales exokrines Pankreasgewebe, HE-Färbung

SB = 200 µm

In der Wand von großen Sekretgängen (SG) können exokrine Pankreasinseln (EXO) gefunden werden, die denselben Aufbau wie das übrige exokrine Pankreasgewebe aufweisen. LU = Lumen

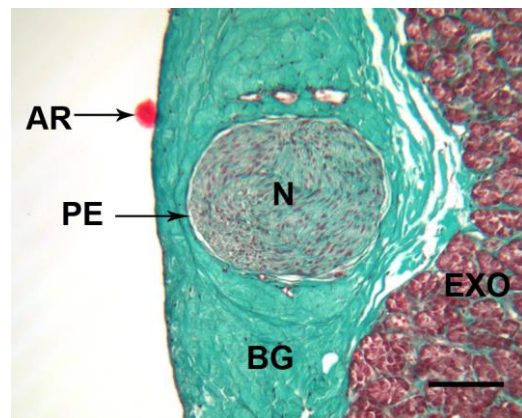


Abb. 26 Pankreas Strauß, peripherer Nerv, Masson-Goldner-Färbung

SB = 100 µm

In der Bindegewebskapsel des Pankreas liegt ein peripheres Nervenfaserbündel (N) im Querschnitt. Es wird von Perineurium (PE) umgeben und enthält zahlreiche Nervenfasern, welche wiederum von einem Endoneurium umgeben sind. BG = Bindegewebe, EXO = exokrines Pankreas, AR = Artefakt

Tab. 9 Ergebnisse der Morphologie der Strukturen im exokrinen Pankreasgewebe des Straußes

Bindegewebskapsel	Anordnung des Bindegewebes	locker
	Septen	dünn
Drüsenzini	Läppchenbildung durch Septen	locker bis straffe Anordnung
Azinuszellen	Zellform	hochprismatisch bis pyramidenähnlich
	Zellkern	basale Lage, chromatinreich
	Nucleoli	1-3
	basale Zone des Zytoplasmas	basophil
	apikale Zone des Zytoplasmas	azidophil
	Sekretgranula	kleine bis große Vakuolen
Zentroazinäre Zellen	Zytoplasma	helles Zytoplasma ohne Granula
	Lage	zentral im Azinuslumen
	Zellkern	hell-basophil mit hellem Hof
	Nucleoli	1-3
Ductus intralobulares	Epithel	einschichtig, platt bis isoprismatisch
	Zellkern	flach bis rund
	Ummantelung	dünne BG-Schicht
Ductus interlobulares	Epithel	einschichtig, isoprismatisch, zunehmend hochprismatisch
	Zellkern	rund
	Ummantelung	BG-Schicht mit dünner Muskelschicht

Große Ausführungsgänge und Ductus pancreaticus	Epithel (bestehend aus drei Schichten):	
	<ul style="list-style-type: none"> • Schleimhautschicht: 	stark gefältelt mit hochprismatischen Zellen
	<ul style="list-style-type: none"> • glatte Muskelzellschicht 	innere longitudinale, äußere zirkuläre Schicht
	<ul style="list-style-type: none"> • Bindegewebsschicht 	mehrschichtig
	Zellkern	rund
	Zymogenzone	mit apikaler Sekretabsonderung
Intramurales exokrines Pankreasgewebe	Lage	gelegentlich in der Wand großer Ausführungsgänge vorhanden
	Morphologie	wie übriges exokrines Pankreasgewebe
Blutgefäße	Arterien	einschichtiges Endothel, Tunica media (glatte Muskulatur), Tunica externa (Bindegewebe)
	Venen	einschichtiges Endothel, dünne Tunica media, dünne Tunica externa
	Erythrozyten	kernhaltig
Periphere Nerven	Lage	in Bindegewebskapsel gelegen
	Schichtung	Epineurium, Perineurium und Endoneurium
	Morphologie der Nervenzellen	helles Zytoplasma, dunkler Zellkern

2.1.2. Endokrines Pankreas

Die Pankreasinseln liegen eigenständig inmitten des exokrinen Pankreasgewebes, z.T. auch im interlobulären Bindegewebe der Azini. Die Langerhans-Inseln erscheinen im Pankreas als helle Inseln inmitten vom dunkleren serös-exokrinen Drüsengewebe (Abb. 27).

Die Inselzellen besitzen eine unregelmäßige polygonale Erscheinung. Die Zellkerne dieser Zellen zeichnen sich durch ihre runde bis elliptische Form aus und besitzen einen unterschiedlichen Gehalt an Heterochromatin. Dadurch zeigen sich die Nuclei in unterschiedlicher Farbintensität. Das Zytoplasma ist homogen, teils blass, teils kräftig gefärbt. Innerhalb der Langerhans-Inseln befinden sich viele Kapillaren.

Die größte Anzahl an Langerhans-Inseln ist beim Strauß im Milzschenkel angelegt. Generell findet man in den Pankreasschenkeln viele kleine runde Zellansammlungen mit Durchmessern bis 100 µm (Abb. 28). Des Weiteren lassen sich mittelgroße Inseln (Abb. 29; Durchmesser: 100 – 250 µm), große Inseln (Abb. 30; Durchmesser: 250 – 400 µm) und auch riesige Inseln mit Durchmessern bis 600 µm (Abb. 31) beobachten. Letztere zeichnen sich durch ihre gelappte Form und eine heterogene Erscheinung der Zellkerne und des Zytoplasmas in der HE- und Masson-Goldner-Färbung aus. Generell kann in der Übersichtsfärbung der vorliegenden Studie zwischen Zellen mit hellem Zytoplasma und chromatinarmem, runden Zellkern sowie Zellen mit dunklem Zytoplasma und kompaktem, heterochromatinreichen Zellkern unterschieden werden. Dies deutet auf das Vorhandensein unterschiedlicher Zellen und Inseln hin. Die kleinen hellen Zellgruppen werden den in der Literatur erwähnten B-Inseln (Nickel et al. 2004) zugeordnet. Gruppen von dunklen Zellen finden sich vor allem in den großen Langerhans-Inseln, welche den A-Inseln zugeordnet werden. Auch eine Zwischenform (Zellen mit mäßig dunklem Zytoplasma und Zellkerne mit mittlerem Chromatingehalt) ist erkennbar. Die einzelnen Zelltypen der Langerhans-Inseln lassen sich jedoch durch die konventionellen histologischen Färbungen nicht eindeutig voneinander unterscheiden und zuordnen. Die Riesen-Inseln befinden sich vor allem im Splenalschenkel und machen bis zu 69% vom gesamten endokrinen Gewebe aus.

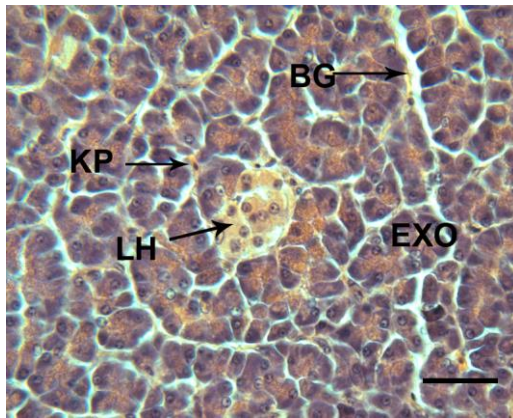


Abb. 27 Pankreas Strauß, kleine Langerhans-Insel, HE-Färbung

SB = 25 µm

Das kleine endokrine Inselgewebe (LH) enthält vorrangig Zellen mit hellem Zytoplasma und runden, hellen Zellkernen. In der Nähe der Insel befinden sich kleine Kapillaren (KP) und Bindegewebe (BG) zwischen den exokrinen Drüsenzazini (EXO) und innerhalb der Insel.

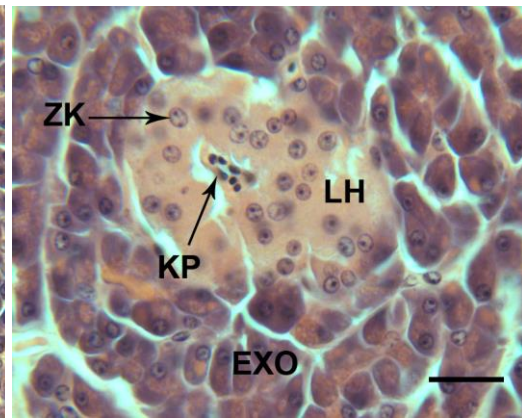


Abb. 28 Pankreas Strauß, kleine Langerhans-Insel, HE-Färbung

SB = 20 µm

Die kleine Langerhans-Insel (LH) enthält endokrine Zellen mit chromatinarmen Zellkernen (ZK) und hellem Zytoplasma. Innerhalb der Inseln befindet sich eine Kapillare (KP) mit Erythrozyten. EXO = exokrines Pankreasgewebe

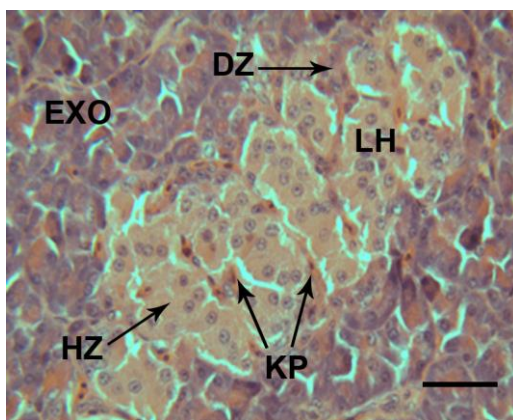


Abb. 29 Pankreas Strauß, mittelgroße Langerhans-Insel, HE-Färbung

SB = 25 µm

Innerhalb der mittelgroßen Langerhans-Insel (LH) befinden sich zahlreiche Kapillaren (KP) im Bindegewebe eingebettet. Es lassen sich Zellen mit hellem Zytoplasma und runden, chromatinarmen Zellkernen (HZ) und Zellen mit dunklerem Zytoplasma und flacheren chromatinreichen Zellkernen (DZ) unterscheiden. EXO = exokrines Gewebe

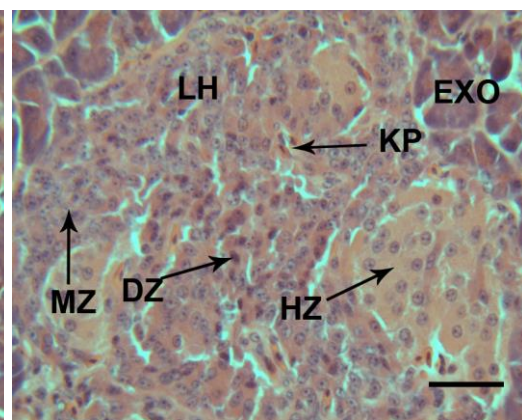


Abb. 30 Pankreas Strauß, große Langerhans-Insel, HE-Färbung

SB = 25 µm

Innerhalb der großen Langerhans-Insel (LH) befinden sich drei verschiedene Zellarten: Zellen mit hellem Zytoplasma und runden, chromatinarmen Zellkernen (HZ), Zellen mit dunklem Zytoplasma und flacheren chromatinreichen Zellkernen (DZ) und Zellen mit leicht dunklem Zytoplasma mittlerem Chromatingehalt (MZ). KP = Kapillare, EXO = exokrines Gewebe

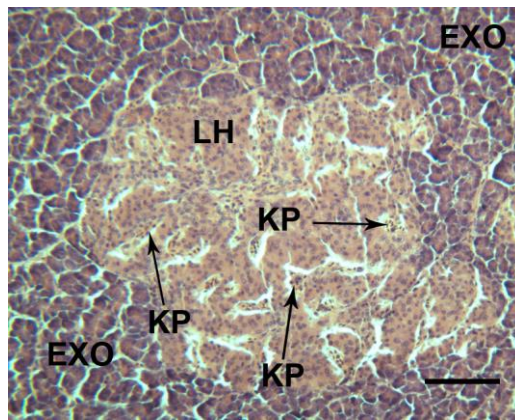


Abb. 31 Pankreas Strauß, Riesen-Langerhans-Insel, HE-Färbung

SB = 100 μ m

Innerhalb der Riesen-Langerhans-Insel (LH) befinden sich Areale mit hellen, mittelhellen und dunklen Zellen. Zwischen den endokrinen Zellen liegen zahlreiche Kapillaren (KP) mit Erythrozyten. EXO = exokrines Pankreas-gewebe

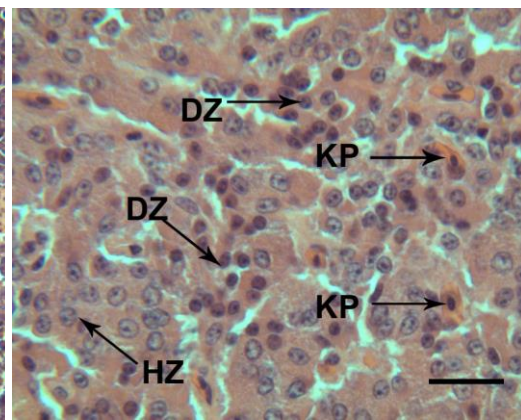


Abb. 32 Pankreas Strauß, endokrines Pankreasgewebe, HE-Färbung

SB = 20 μ m

Innerhalb des endokrinen Pankreasgewebes sind hier vor allem zwei verschiedene Zellarten zu unterscheiden: Zellen mit hellem Zytoplasma und runden, chromatinarmen Zellkernen (HZ), Zellen mit dunklem Zytoplasma und flacheren chromatinreichen Zellkernen (DZ). KP = Kapillare

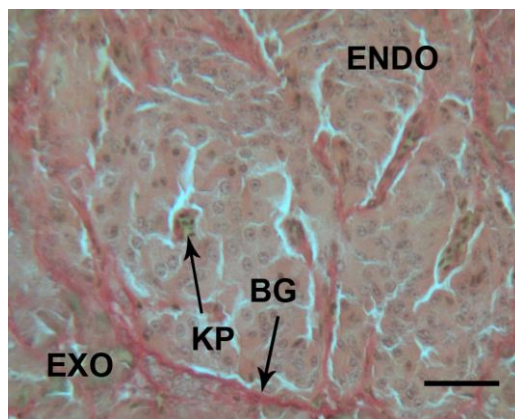


Abb. 33 Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Resorcinfuchsin – van Gieson-Färbung

SB = 25 μ m

Endokrines Pankreasgewebe (ENDO) mit Bindegewebssepten (BG) und kleinen Kapillaren (KP) zwischen den endokrinen Zellen. EXO = exokrines Pankreasgewebe

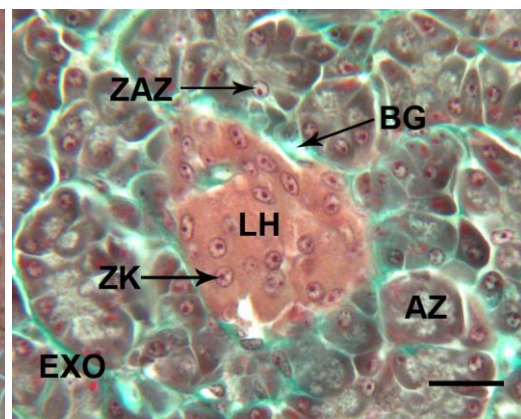


Abb. 34 Pankreas Strauß, kleine Langerhans-Insel, Masson-Goldner-Färbung

SB = 20 μ m

Die kleine Langerhans-Insel (LH) wird von Bindegewebe (BG) umgeben, welches sich auch zwischen den Drüsenazini (AZ) des exokrinen Pankreasgewebes (EXO) verläuft. Die Zellen des endokrinen Gewebes besitzen ein helles Zytoplasma und einen runden, chromatinarmen Zellkern (ZK). ZAZ = Zentroazinäre Zelle

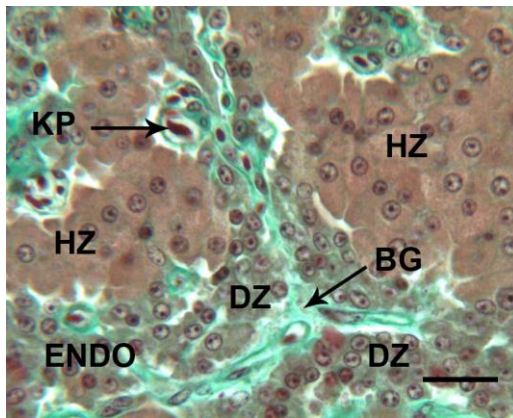


Abb. 35 Pankreas Strauß, Langerhans-Insel mit unterschiedlichen Zelltypen, Masson-Goldner-Färbung

SB = 25 µm

Die endokrinen Inselzellen (ENDO) bilden Zellanhäufungen. Dabei können helle (HZ) und dunkle (DZ) Zellgruppen unterschieden werden. Dazwischen verläuft Bindegewebe (BG), darin sind viele Kapillaren (KP) eingebettet.



Abb. 36 Pankreas Strauß, mittelgroße Langerhans-Insel, Masson-Goldner-Färbung

SB = 25 µm

Die Zellen der Langerhans-Insel (LH) zeigen eine differenzierte Anfärbung des Zytoplasmas. Auch hier lassen sich helle (HZ) von dunklen (DZ) Zellgruppierungen unterscheiden. BG = Bindegewebe, KP = Kapillare, EXO = exokrines Gewebe

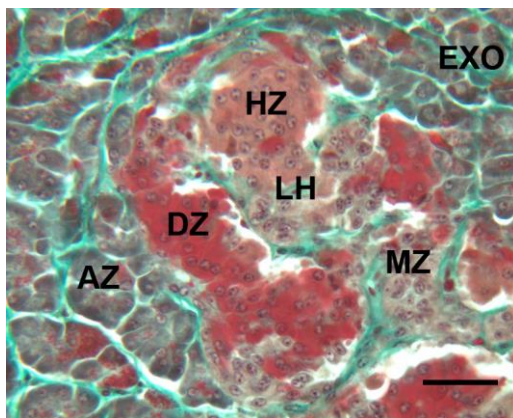


Abb. 37 Pankreas Strauß, große Langerhans-Insel, Masson-Goldner-Färbung

SB = 25 µm

Die große Langerhans-Insel (LH) enthält helle (HZ) und dunkle (DZ) Areale und Bereiche mit Zellen mittleren Chromatingehalts (MZ). Dazwischen befinden sich lockeres Bindegewebe und Blutgefäße. AZ = Azinus, EXO = exokrines Pankreasgewebe

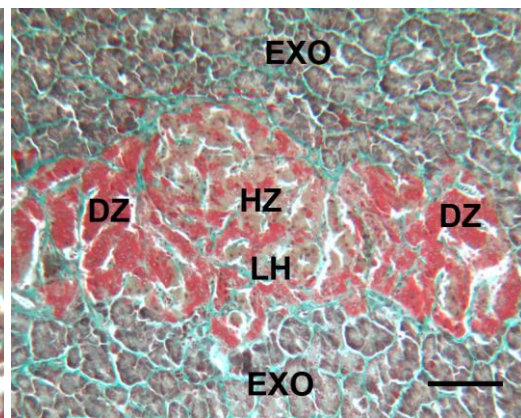


Abb. 38 Pankreas-Strauß, Riesen-Langerhans-Insel, Masson-Goldner-Färbung

SB = 100 µm

Die Riesen-Langerhans-Insel (LH) enthält in den Randbezirken vor allem dunkle endokrine Areale (DZ), im Zentrum können hauptsächlich helle Zellen (HZ) gefunden werden. EXO = exokrines Pankreasgewebe

Tab. 10 Morphologie der Pankreasinseln und Typisierung der darin vorkommenden Zellen in den Übersichtsfärbungen

Kleine Langerhans- Inseln <ul style="list-style-type: none"> Hauptzellen: helle Zellen 	Größe	bis 100 µm
	Morphologie	runde Formation
	Vorkommen	in allen Schenkeln
	Zytoplasma	homogen, hell; hoher Anteil
	Zellkern	rund, chromatinarm
	Nucleoli	1-2
Mittelgroße Langerhans-Inseln	Größe	100 – 250 µm
	Morphologie	helle und dunkle endokrine Zellen
	Vorkommen	in allen Schenkeln
Große Langerhans- Inseln	Größe	250 – 400 µm
	Morphologie	helle und dunkle endokrine Zellen
	Vorkommen	in allen Schenkeln
Riesen-Langerhans- Inseln	Größe	bis 600 µm
	Morphologie	gelappte, polygonale Formation
	Vorkommen	besonders im Splenalschenkel
<ul style="list-style-type: none"> Helle Zellen: 	Zytoplasma	homogen, hell
	Zellkern	rund, chromatinarm
	Nucleoli	1-2
<ul style="list-style-type: none"> Dunkle Zellen 	Zytoplasma	homogen, dunkel
	Zellkern	flach-elliptisch, chromatinreich
	Nucleoli	1-2
Sonstiges	Kapillaren	Lage: innerhalb der Pankreasinseln
Häufigkeit Langerhans-Inseln	Dorsalschenkel	+
	Ventralschenkel	+
	Splenalschenkel	+++

+ = geringer Anteil an Langerhans-Inseln, +++ = sehr viele Langerhans-Inseln

2.2. Substrathistochemische Färbungen

2.2.1. Exokrines Pankreas

2.2.1.1. PAS-Reaktion nach McManus

Das exokrine Pankreasgewebe ist hinsichtlich der PAS-Reaktion als negativ zu betrachten. Die Azinuszellen zeigen keine Anteile von Polysacchariden, Muko- oder Glykoproteinen. Lediglich im interstitiellen Bindegewebe zeigen die retikulären Fasern eine leichte Reaktion. Im Epithel der Sekretgänge hingegen kann eine PAS-positive Reaktion im supranukleären Bereich und an der apikalen Zellmembran beobachtet werden. Neben den hochprismatischen Epithelzellen befinden sich zusätzlich noch vereinzelt Becherzellen in der Wand der großen Ausführungsgänge (Abb. 39). Die kollagenen Fasern in der Wand der Gefäße zeigen ebenfalls eine sehr leichte Reaktion mit PAS.



Abb. 39 Pankreas Strauß, Ausführungsgang, PAS-Reaktion nach McManus

SB = 25 µm

Im Bereich der apikalen Zellmembran (AZM) und im Lumen (LU) des Ausführungsganges befindet sich Zymogensekret (SE). Das Epithel (EP) selbst reagiert nur im apikalen Bereich leicht PAS-positiv. Die Becherzelle (BZ) färbt sich durch die PAS-Reaktion deutlich an.

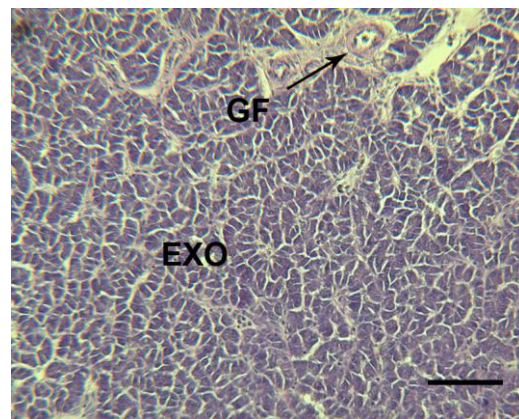


Abb. 40 Pankreas-Strauß, exokrines Pankreasgewebe, PAS-Reaktion nach McManus

SB = 100 µm

Das exokrine Pankreasgewebe (EXO) verhält sich bei der PAS-Reaktion negativ. GF = Gefäß

2.2.1.2. PAS-Reaktion nach Amylaseverdau

Nach Vorinkubation mit α -Amylase zeigt sich im exokrinen Pankreasgewebe keine positive Reaktion bei der PAS-Färbung.

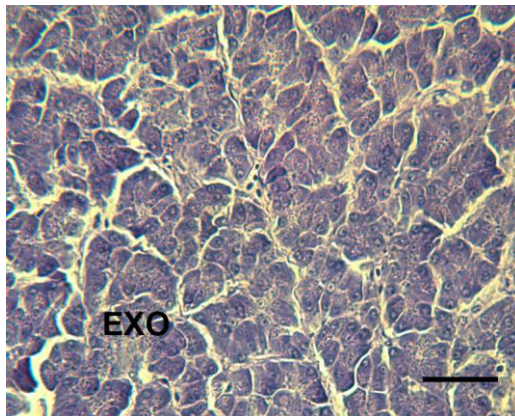


Abb. 41 Pankreas Strauß, exokrines Pankreasgewebe, PAS-Reaktion nach Amylaseverdau

SB = 25 μ m

Das exokrine Pankreasgewebe (EXO) zeigt bei der PAS-Reaktion nach Amylaseverdau keine Veränderungen.

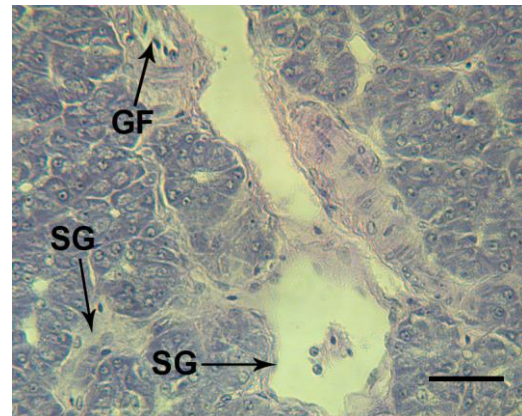


Abb. 42 Pankreas-Strauß, Sekretgang, PAS-Reaktion nach Amylaseverdau

SB = 25 μ m

Weder das Epithel der Sekretgänge (SG), noch die kollagenen Fasern der Gefäßwände (GF) reagieren bei der PAS-Reaktion nach Amylaseverdau.

2.2.1.3. Alcianblaufärbung

2.2.1.3.1. Alcianblaufärbung 8GX pH 2,5

Beim Nachweis von sauren Muzinen und Glykosaminglykanen mittels der Alcianblaufärbung bei einem pH-Wert von 2,5 konnte im exokrinen Pankreasgewebe eine starke Färbung der apikalen Zellmembran der großen Drüsenausführungsgänge beobachtet werden (Abb. 43/44). Die Kerne der hochprismatischen Epithelzellen erscheinen durch die Gegenfärbung mit Kernechtrot leuchtend rot. Im supranukleären Bereich der Epithelzellen der Sekretgänge ist eine leichte, inhomogene Blaufärbung zu sehen. Der dem Lumen zugewandte apikale Saum erscheint dagegen leuchtend blau. In diesem Bereich ist die Absonderung des Verdauungssekrets deutlich sichtbar. Zwischen den Epithelzellen können vereinzelt Becherzellen gefunden werden (Abb. 44). Das Bindegewebe zwischen Azini reagiert schwach positiv (Abb. 45). Im Gegensatz dazu erscheint das Bindegewebe in den dickeren Blutgefäßen, besonders die Endothelzellen der Tunica intima und externa intensiver gefärbt (Abb. 46). Die Azinuszellen verhalten sich negativ, lediglich ihr Zellkern ist rot gefärbt.

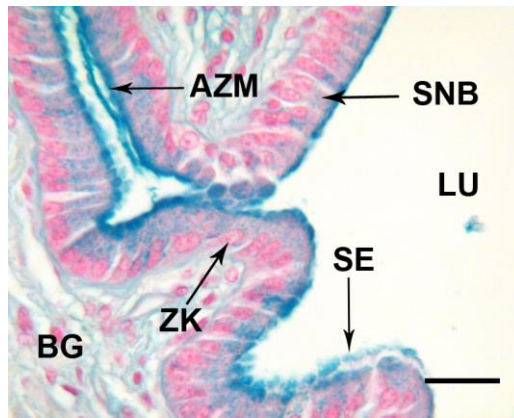


Abb. 43 Pankreas Strauß, Epithel Sekretgang, Alcianblaufärbung 8GX pH 2,5

SB = 20 µm

Die hochprismatischen Epithelzellen des Drüsenausführungsganges besitzen einen rot gefärbten Zellkern (ZK) und einen bläulich-inhomogenen supranukleären Bereich (SNB). An der apikalen Zellmembran (AZM) sind sie leuchtend blau gefärbt, auch das abgesonderte Sekret (SE) erscheint leuchtend blau im Lumen (LU). BG = Bindegewebe

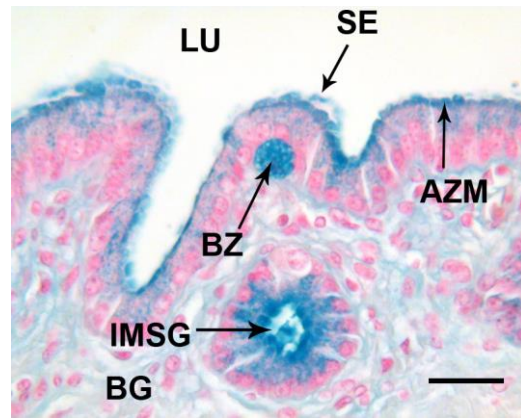


Abb. 44 Pankreas Strauß, Sekretgang, Becherzelle, Alcianblaufärbung 8GX pH 2,5

SB = 20 µm

Zwischen den hochprismatischen Epithelzellen des großen Drüsenausführungsganges befindet sich eine Becherzelle (BZ). Der supranukleäre Bereich, die apikale Zellmembran (AZM) und das ins Lumen (LU) abgesonderte Drüsensekret (SE) zeigen ebenfalls eine starke Blaufärbung. BG = Bindegewebe, IMSG = intramuraler Sekretgang



Abb. 45 Pankreas Strauß, Bindegewebskapsel und Septen im exokrinen Pankreasgewebe, Alcianblau 8GX pH 2,5

SB = 25 µm

Die leicht positiv reagierenden Bindegewebssepten (SPT) ziehen von der Bindegewebskapsel (BG) zwischen die Drüsenazini (AZ). Die Zellkerne (ZK) der Azinuszellen färben sich rot an.

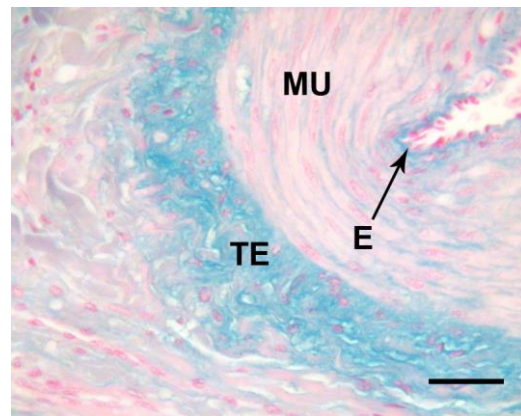


Abb. 46 Pankreas Strauß, Arterie, Alcianblau 8GX pH 2,5

SB = 25 µm

Die Zellen des Endothels (E) und der Tunica externa (TE) reagieren etwas stärker leuchtend blau. MU = glatte Muskelzellen

2.2.1.3.2. Alcianblaufärbung 8GX pH 1,0

Bei der Alcianblaufärbung mit einem pH-Wert von 1,0 werden stark sulfatierte Muzine und Glykoproteine nachgewiesen. Hierbei reagieren die apikale Zellmembran der hochprismatischen Epithelzellen der Sekretgänge und das Sekret selbst stark positiv (Abb. 47/48). Der supranukleäre Bereich der Azinuszellen reagiert nur ganz schwach positiv. Die Zellkerne aller Zellen färben sich wie bei der Alcianblaufärbung 2,5 leuchtend rot an. Das Bindegewebe verhält sich negativ.

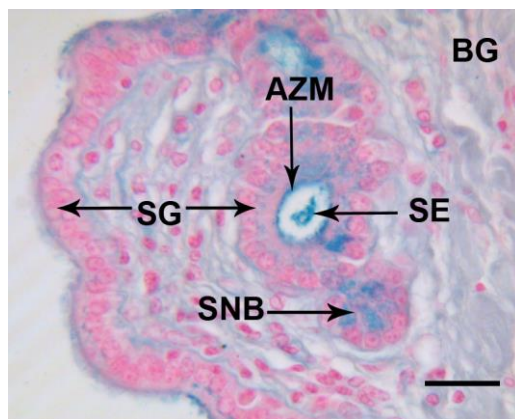


Abb. 47 Pankreas Strauß,
Drüsenausführungsgang,
Alcianblaufärbung 8GX pH 1,0

SB = 20 µm

Die Glykokalyx der apikalen Zellmembran (AZM) der hochprismatischen Epithelzellen der Sekretgänge (SG) färbt sich leuchtend blau, ebenso das Sekret (SE). Der supranukleäre Bereich (SNB) ist nur sehr leicht inhomogen blau gefärbt.
BG = Bindegewebe

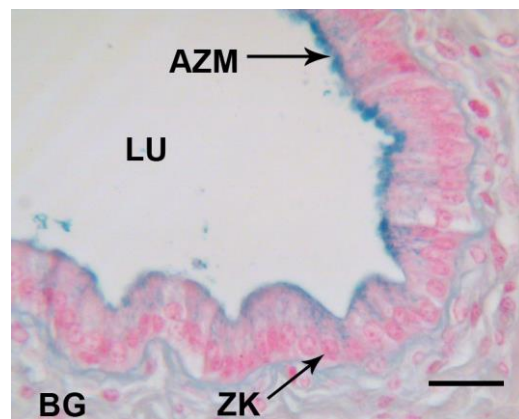


Abb. 48 Pankreas Strauß,
Drüsenausführungsgang,
Alcianblaufärbung 8GX pH 1,0

SB = 20 µm

Die Glykokalyx der apikalen Zellmembran (AZM) zeigt eine deutliche leuchtend blaue Färbung. Die Zellkerne (ZK) der hochprismatischen Epithelzellen des großen Ausführungsganges sind rot gefärbt.
LU = Lumen, BG = Bindegewebe

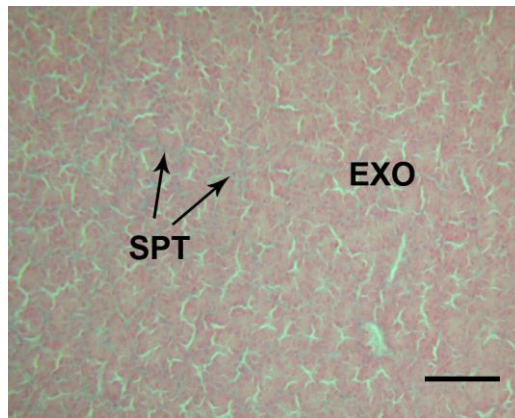


Abb. 49 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe, Alcianblau 8GX pH 1,0

SB = 100 µm

Die Bindegewebssepten (SPT) zwischen den Drüsenzazini des exokrinen (EXO) Pankreasgewebes reagieren nur sehr schwach positiv.

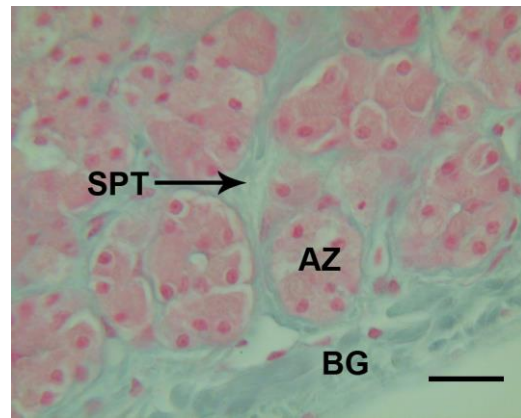


Abb. 50 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe Kapselbereich, Alcianblau 8GX pH 1,0

SB = 20 µm

Die von der bindegewebigen Kapsel (BG) entsendeten Bindegewebssepten (SPT) reagieren leicht positiv. AZ = Azinus

2.2.2. Endokrines Pankreas

2.2.2.1. PAS-Reaktion nach McManus

Die endokrinen Zellen der Pankreasinseln zeigen keine Reaktion bei der PAS-Färbung. Lediglich die Fasern der bindegewebigen Septen innerhalb der Inseln weisen eine leicht positive Reaktion auf.

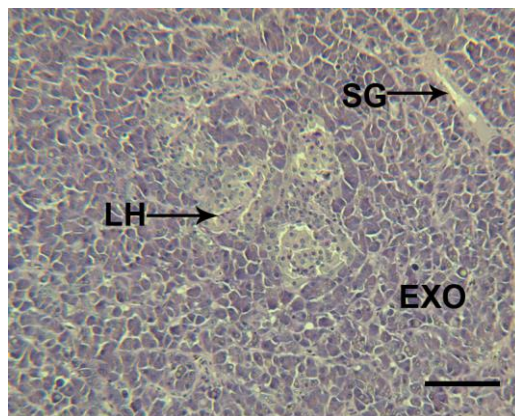


Abb. 51 Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, PAS-Reaktion nach McManus

SB = 100 µm

Die von exokrinem Pankreasgewebe (EXO) umgebene Langerhans-Insel (LH) zeigt keine Reaktion mit PAS.
SG = Sekretgang

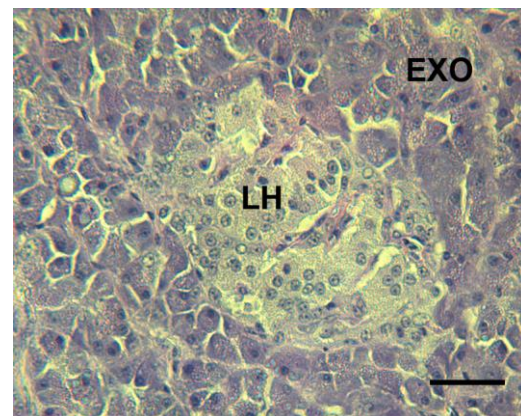


Abb. 52 Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, PAS-Reaktion nach McManus

SB = 25 µm

Die endokrinen Zellen der Langerhans-Insel (LH) reagieren nicht mit PAS. Lediglich die Bindegewebsfasern innerhalb der Insel zeigen eine leicht positive Reaktion. EXO = exokrines Gewebe

2.2.2.2. PAS-Reaktion nach Amylaseverdau

Bei der PAS-Reaktion nach Amylaseverdau zeigt das endokrine Pankreasgewebe wie auch schon bei der PAS-Reaktion ohne Amylaseverdau eine negative Reaktion.

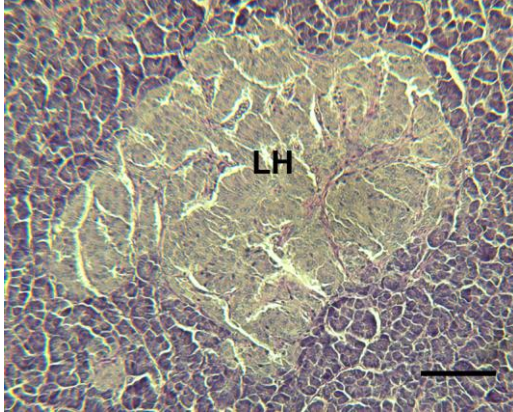


Abb. 53 Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, PAS-Reaktion nach Amylaseverdau

SB = 100 µm

Die von exokrinem Pankreasgewebe umgebene Langerhans-Insel (LH) zeigt keine Reaktion mit PAS/Amylase.

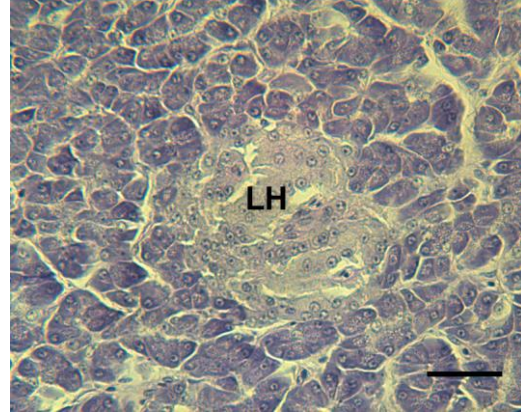


Abb. 54 Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, PAS-Reaktion nach Amylaseverdau

SB = 25 µm

Die im exokrinen Pankreasgewebe eingebettete Langerhans-Insel (LH) reagiert nicht mit PAS/Amylase.

2.2.2.3. Alcianblaufärbung

2.2.2.3.1. Alcianblaufärbung 8GX pH 2,5

Im endokrinen Pankreasgewebe konnten saure Glykosaminglykane mittels Alcianblau 8GX 2,5 nur im Bindegewebe zwischen den endokrinen Zellen und im Endothel der Kapillaren nachgewiesen werden (Abb. 56). Diese Reaktion ist allerdings nur sehr schwach, führt aber dennoch dazu, dass sich die endokrinen Inseln vom exokrinen Pankreasgewebe farblich etwas abheben (Abb. 55). Die Langerhans-Zellen selbst zeigen keine Farbreaktion. Lediglich die Zellkerne färben sich rot an.

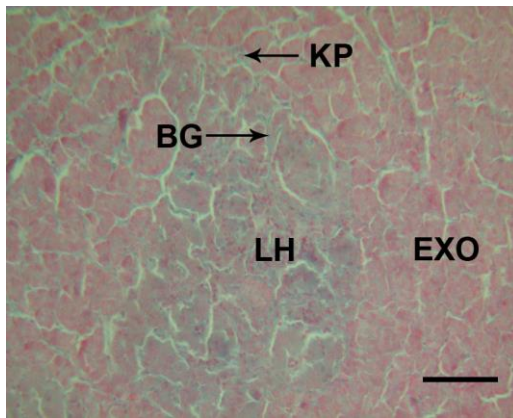


Abb. 55 Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Alcianblaufärbung 8GX pH 2,5

SB = 100 µm

Innerhalb der Langerhans-Insel (LH) sind kleine, leicht blau gefärbte Bindegewebssepten (BG) zu finden. Das Endothel der Kapillaren (KP) reagiert ebenfalls schwach positiv. EXO = exokrines Gewebe

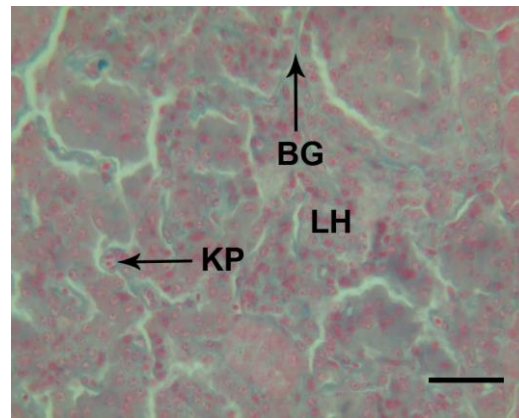


Abb. 56 Pankreas Strauß, endokrines Gewebe, Alcianblaufärbung 8GX pH 2,5

SB = 25 µm

Die im endokrinen Pankreasgewebe (LH) verlaufenden Bindegewebsfasern (BG) reagieren schwach positiv. Auch das Endothel der Kapillaren (KP) färbt sich mit Alcianblau 8GX 2,5 leicht an.

2.2.2.3.2. Alcianblaufärbung 8GX pH 1,0

Die Langerhans-Inseln zeigen keine Reaktion mit Alcianblau 8GX 1,0. Lediglich das Bindegewebe zwischen den endokrinen Zellen und die Kapillaren reagiert sehr schwach positiv.

2.3. Ermittlung des mittleren Durchmessers der Langerhans-Inseln und deren Verteilung innerhalb der Schenkel

Wie bereits erwähnt bemessen sich kleine Inseln auf ca. 80 – 100 µm, mittelgroße auf 100 – 250 µm und große Inseln auf 250 – 400 µm. Die größten Riesen-Inseln messen bis 600 µm. Bei der Ermittlung der durchschnittlichen Größe der Pankreasinseln und der semiquantitativen Einteilung in vier Gruppen konnte festgestellt werden, dass die meisten und größten Inseln im Splenalschenkel zu finden sind. Innerhalb dieser Milzschenkel können 36,68% ($\pm 20,86$) der Riesen-Zellgruppe zugeordnet werden, 22,98% ($\pm 4,74$) der großen Inselzellgruppe, 21,85% ($\pm 10,01$) den mittelgroßen und 18,49% ($\pm 10,56$) den kleinen Inseln. Bei den Dorsal- und Ventralschenkeln ist der Anteil der kleinen, mittelgroßen und großen Inseln in etwa gleichverteilt bei je ca. 30%, nur der Anteil der Riesen-Inseln ist geringer (ca. 10%).

3. Glykohistochemische Untersuchungen

3.1. Lektinbindungsstellennachweis für Glukose/Mannose bindende Lektine

3.1.1. Bindungsstellen für *Canavalia ensiformis* Agglutinin (ConA)

Das Pankreasgewebe zeigt insgesamt eine starke Bindung des Lektins ConA. Das Zytoplasma der Azinuszellen besitzt eine deutliche inhomogene Fluoreszenz. Diese leicht granuläre Inhomogenität im supranukleären Bereich basiert auf der fehlenden Fluoreszenz der Zymogengranula. Die Zellkerne heben sich ebenfalls aufgrund ihrer fehlenden Bindungsbereitschaft für ConA deutlich vom Zytoplasma ab. Das endokrine Pankreasgewebe des Straußes besitzt dagegen nur eine sehr leichte Fluoreszenzfärbung, sodass eine Abgrenzung zu den exokrinen Drüsenzini gut möglich ist (Abb. 58). Die Sekretgänge weisen keine Bindungsstellen für ConA auf. Das Bindegewebe der Kapsel verhält sich negativ, ebenso die ins Organ ziehenden Bindegewebssepten (Abb. 57). Die Basalmembranen zeigen keine Reaktion mit dem FITC-markierten Lektin ConA. Gefäße weisen ebenso keine Bindungsstellen für das Lektin ConA auf (Abb. 58).

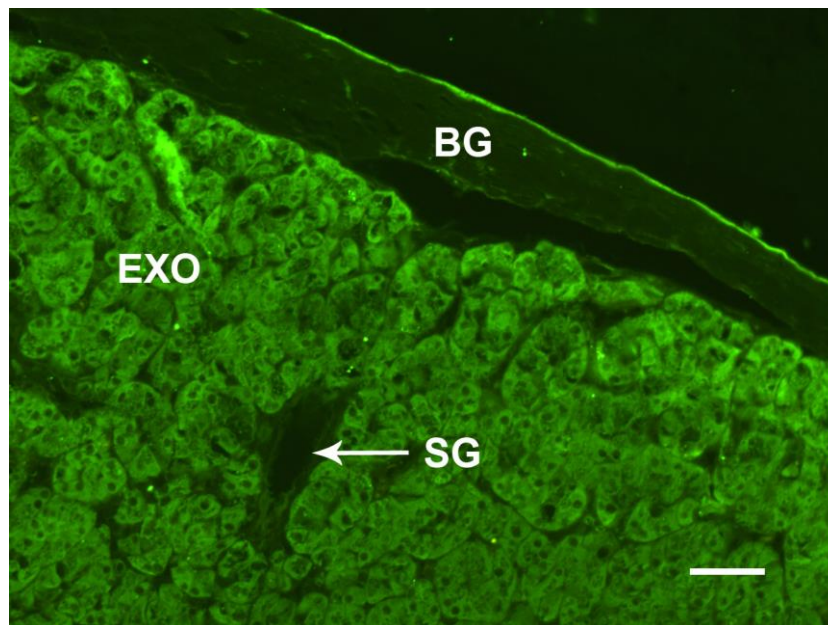


Abb. 57 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe mit BG-Kapsel, Bindung von ConA-FITC

SB = 25 μ m

Die Bindegewebskapsel (BG) zeigt keine Bindungsfähigkeit von ConA. Ebenso wenig die Sekretgänge (SG). Das Zytoplasma der exokrinen Zellen (EXO) erscheint hingegen homogen fluoreszierend.

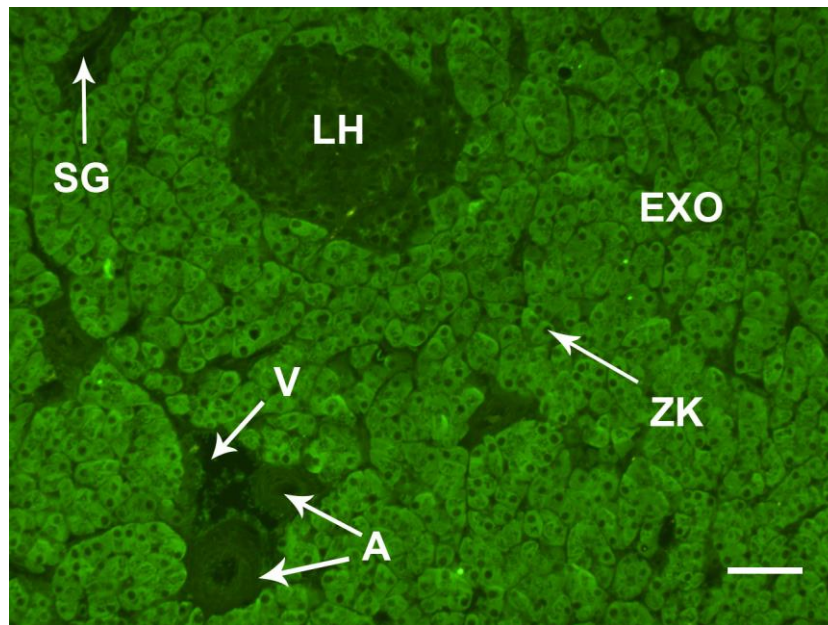


Abb. 58 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe mit Langerhans-Insel, Bindung von ConA-FITC

SB = 25 μ m

Die endokrine Langerhans-Insel (LH) hebt sich aufgrund ihrer sehr geringen Fluoreszenz deutlich vom umgebenden exokrinen Pankreasgewebe (EXO) ab. Weder die Gefäße (A, V) noch die Sekretgänge (SG) zeigen eine Reaktion mit ConA.
ZK = Zellkern

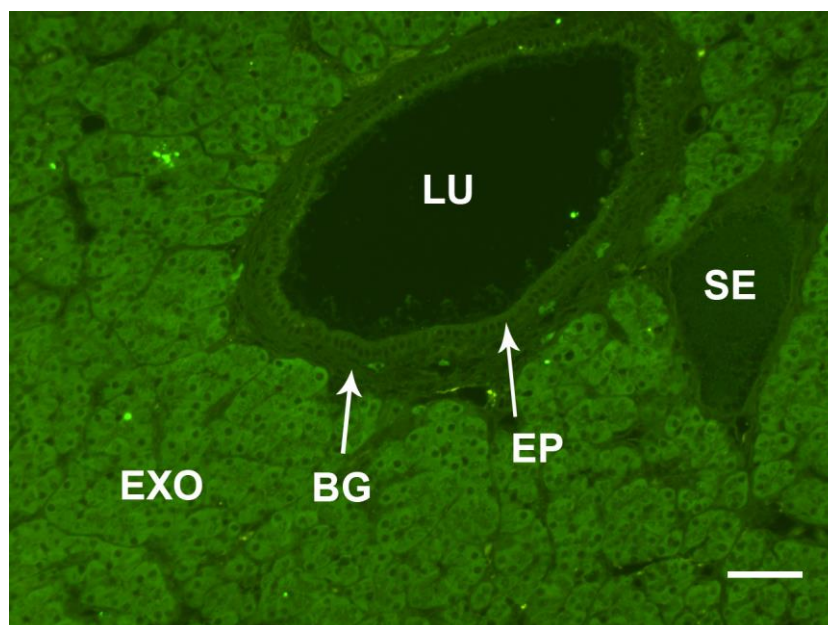


Abb. 59 Pankreas Strauß, Ductus interlobularis, Bindung von ConA-FITC

SB = 25 μ m

Das Epithel (EP) der Ausführungsgänge zeigt keine Fluoreszenz. Das exokrine Gewebe (EXO) hingegen weist eine starke Bindungsfähigkeit zu ConA auf.
SE = Sekret, BG = Bindegewebe, LU = Lumen eines Sekretganges

3.1.2. Bindungsstellen für *Lens culinaris* Agglutinin (LCA)

Das Pankreasgewebe des Straußes zeigt ein starkes Bindungsvermögen für FITC-markiertes LCA. Das Zytoplasma des exokrinen Drüsengewebes fluoresziert inhomogen. Diese Inhomogenität ist jedoch nur bei stärkerer mikroskopischer Vergrößerung sichtbar. Durch die fehlende Bindungsfähigkeit der Zymogengranula in der Apikalzone erscheint diese etwas weniger stark fluoreszierend als der Basalbereich der Azinuszellen (Abb. 62). Die basal liegenden dunklen Zellkerne heben sich durch ihre fehlende Fluoreszenz vom Zytoplasma ab. Die endokrinen Langerhans-Inseln zeigen eine stark positive Reaktion. Sie enthalten viele intensiv fluoreszierende Granula, die im Zytoplasma der endokrinen Zellen liegen (Abb. 60). Die Kapillaren zwischen den exokrinen Drüsenazini und innerhalb der Langerhans-Inseln sind aufgrund der Fluoreszenz ihrer Endothelien gut zu erkennen. Die Basalmembranen der glatten Muskelzellen der Arterien, Venen und der größeren Sekretgänge zeigen ebenfalls eine leichte Fluoreszenz (Abb. 61).

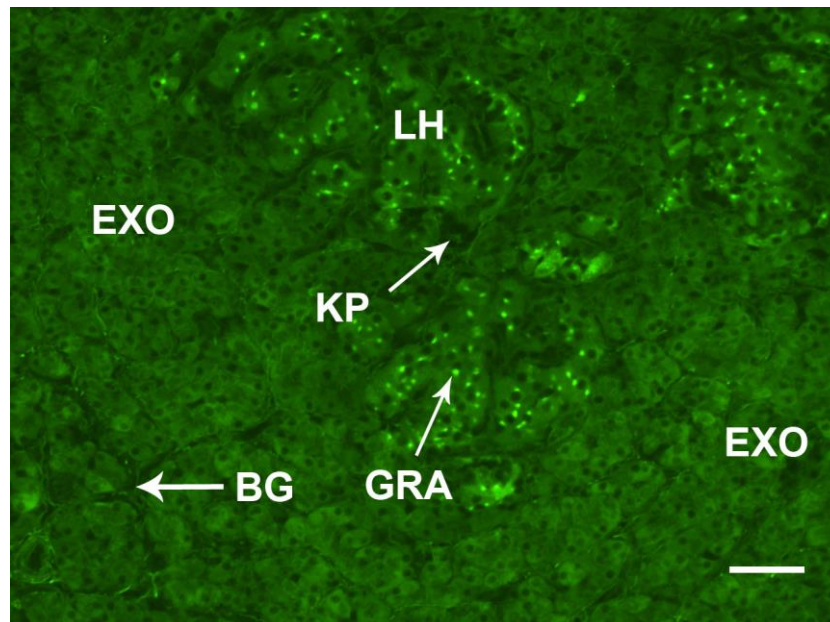


Abb. 60 Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Bindung von LCA-FITC

SB = 25 μ m

Die Granula (GRA) innerhalb der endokrinen Zellen der Langerhans-Inseln (LH) weisen eine starke Fluoreszenz auf. Das exokrine Pankreasgewebe (EXO) erscheint relativ homogen positiv. KP = Kapillare, BG = Bindegewebe

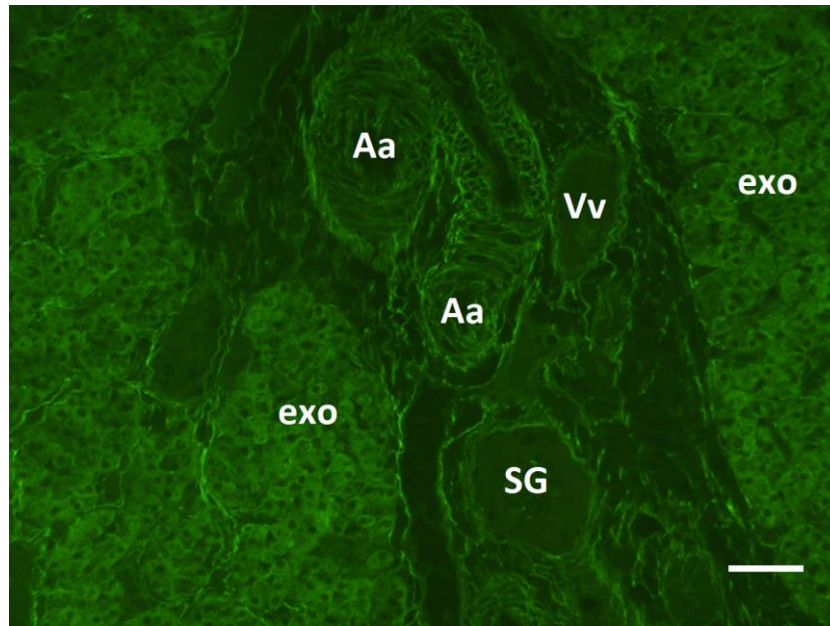


Abb. 61 Pankreas Strauß, Gefäße und Sekretgänge, Bindung von LCA-FITC

SB = 25 μ m

Die Basalmembran der glatten Muskelzellen der Arterien (Aa), Venen (Vv) und Sekretgänge (SG) reagieren stark positiv. exo = exokrines Pankreasgewebe

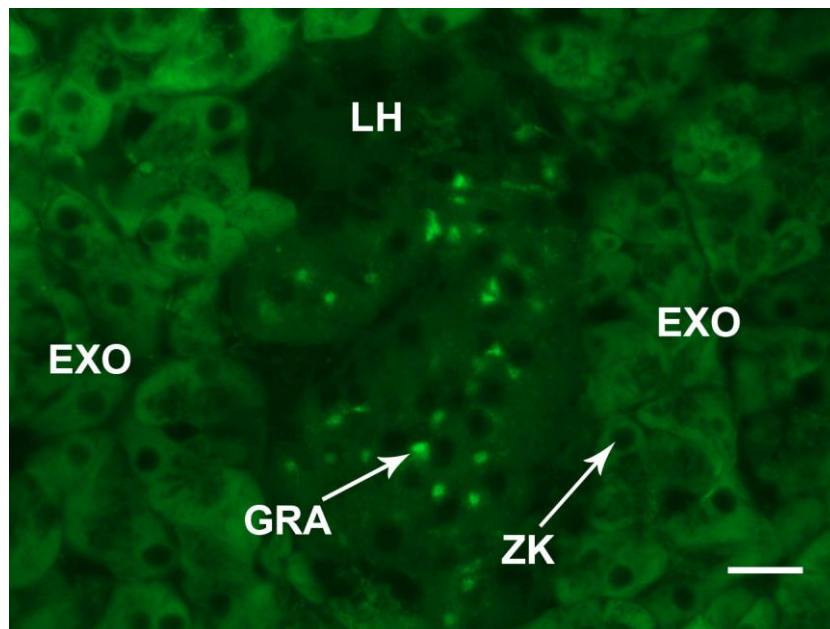


Abb. 62 Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Bindung von LCA-FITC

SB = 50 μ m

Innerhalb der endokrinen Zellen der Langerhans-Inseln (LH) sind kleine Granula (GRA) sichtbar, die eine starke Fluoreszenz aufweisen.

ZK = Zellkern, EXO = exokrines Gewebe

3.1.3. Bindungsstellen für *Pisum sativum* Agglutinin (PSA)

PSA-Bindungsstellen sind in vielen Bereichen des Pankreasgewebes zu finden. Das Zytoplasma der Azinuszellen zeigt eine homogene Fluoreszenz. Die Basalmembran dieser Zellen reagiert stark positiv (Abb. 63). In der apikalen Zone der Azinuszellen und im Lumen der Azini sind kleine, fluoreszierende Zymogengranula erkennbar (Abb. 64/65). Die Langerhans-Inseln zeigen eine starke Bindung von PSA-FITC. Hier sind, wie beim Lektin LCA, intensiv leuchtende Granula im paranukleären Bereich des Zytoplasmas zu finden (Abb. 63). Das Zytoplasma der endokrinen Inselzellen weist ebenfalls eine starke Bindungsfähigkeit zu PSA auf. Sekretgänge sind schwach positiv, die Sekretzone am Epithel der Ausführungsgänge ist als deutlich fluoreszierender Saum sichtbar (Abb. 64/65).

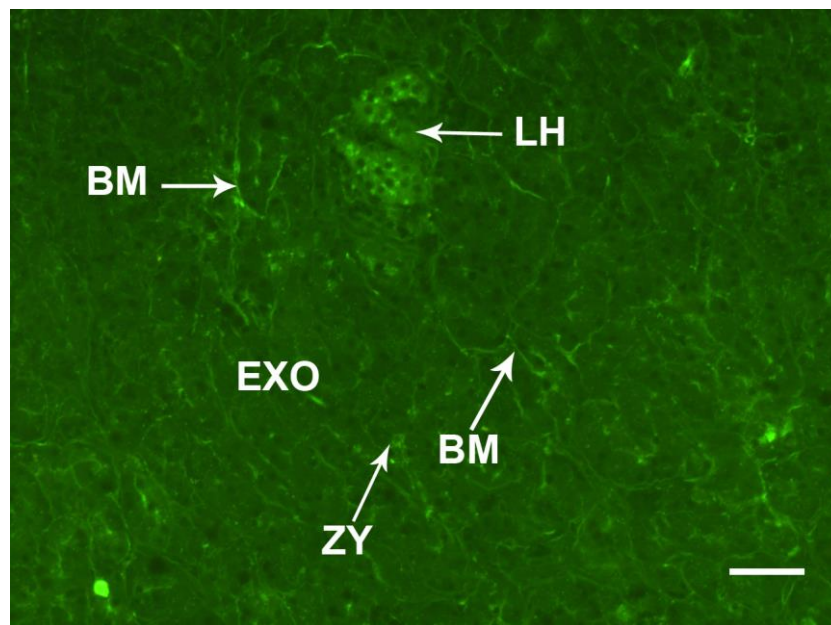


Abb. 63 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Langerhans-Insel, Bindung von PSA-FITC

SB = 25 μ m

Das exokrine Pankreasgewebe (EXO) erscheint schwach und homogen fluoreszierend. Die Basalmembranen (BM) der Azinuszellen zeigt eine hohe Bindungsfähigkeit zu PSA. In den Lumina der Azini ist das feine Zymogensekret (ZY) erkennbar. Die Langerhans-Inseln (LH) reagieren stark positiv, v.a. die endokrinen Granula.

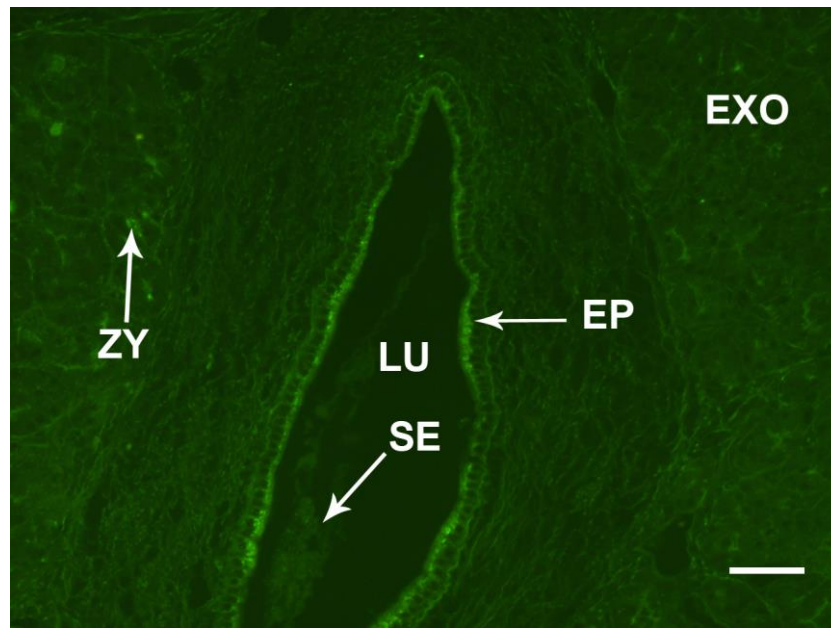


Abb. 64 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Sekretgang, Bindung von PSA-FITC

SB = 25 μ m

Im apikalen Saum der Epithelzellen (EP) eines Drüsenausführungsganges ist das stark fluoreszierende Sekret (SE) sichtbar, ebenso im Lumen (LU) dessen. In den Lumina der Azini ist das Zymogensekret (ZY) ebenfalls sichtbar. EXO = exokrines Gewebe

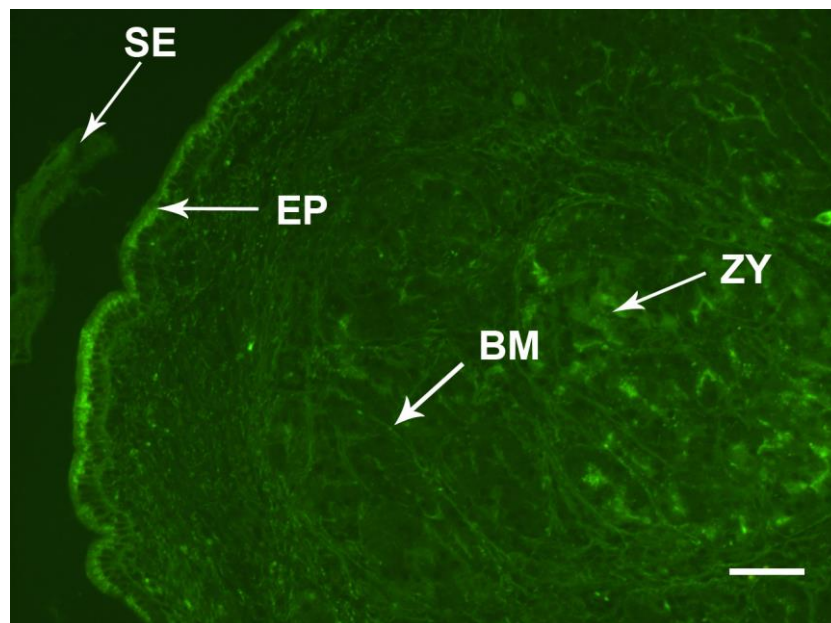


Abb. 65 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Sekretgang, Bindung von PSA-FITC

SB = 25 μ m

Im apikalen Saum der Epithelzellen der großen Ausführungsgänge zeichnet sich das fluoreszierende Zymogensekret (SE) ab, welches ins Sekretlumen (LU) abgegeben wird. BM = Basalmembran, ZY = Zymogengranula

3.2. Lektinbindungsstellennachweis für Galaktose bindende Lektine

3.2.1. Bindungsstellen für *Arachis hypogaea* Agglutinin (PNA)

Das exokrine und endokrine Pankreasgewebe des Straußes zeigte keine im Fluoreszenzmikroskop sichtbaren Bindungsstellen für PNA.

3.2.2. Bindungsstellen für *Ricinus communis* Agglutinin (RCA)

Das exokrine Pankreasgewebe zeigt eine starke Reaktion nach der Inkubation mit dem FITC-markierten Lektin RCA. Die Zellmembranen der exokrinen Azinuszellen sind meist deutlich zu erkennen. Die Basalmembranen dieser Zellen reagieren ebenfalls positiv (Abb. 68). Das Zytoplasma des exokrinen Pankreasgewebes erscheint inhomogen fluoreszierend, wobei die apikale Zone und das Azinulumen eine starke Intensität aufweisen (Abb. 66). Auffallend ist zudem die ausgeprägte Bindungsfähigkeit von RCA mit dem Bindegewebe (Abb. 68). Die glatten Muskelzellen der Gefäße sind mäßig gefärbt. Das endokrine Gewebe hingegen ist reaktionslos bezüglich RCA.

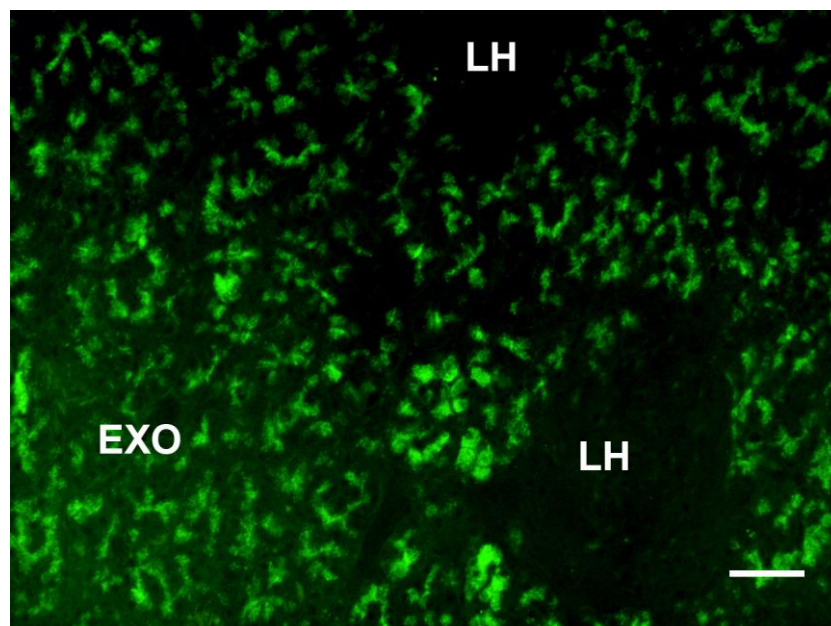


Abb. 66 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Langerhans-Insel, Bindung von RCA-FITC

SB = 25 μ m

Die luminalen Bereiche der Azinuszellen zeigen eine besondere Bindungsbereitschaft für RCA. Hierbei erscheint die apikale Zone und der luminal Bereich der Drüsenazini stark fluoreszierend. Die Langerhans-Inseln (LH) hingegen zeigen keine Reaktion mit dem Lektin RCA. EXO = exokrines Gewebe

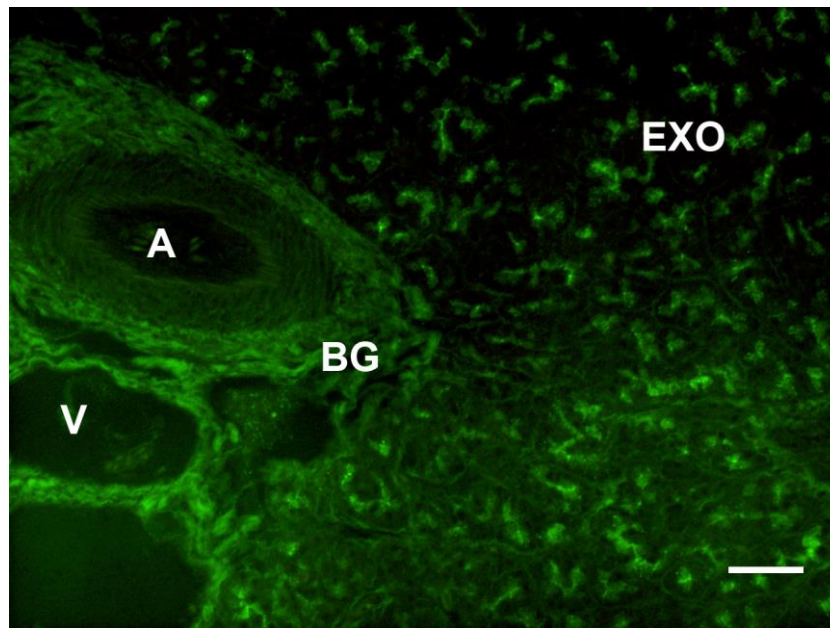


Abb. 67 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Gefäße, Bindung von RCA-FITC

SB = 25 μ m

Die Bindegewebsschichten (BG) der Arterie (A) und Vene (V) zeigen eine starke Bindung von RCA. Das exokrine Pankreasgewebe (EXO) zeichnet sich durch eine starke Fluoreszenz von Material in den Lumina der Azini aus.

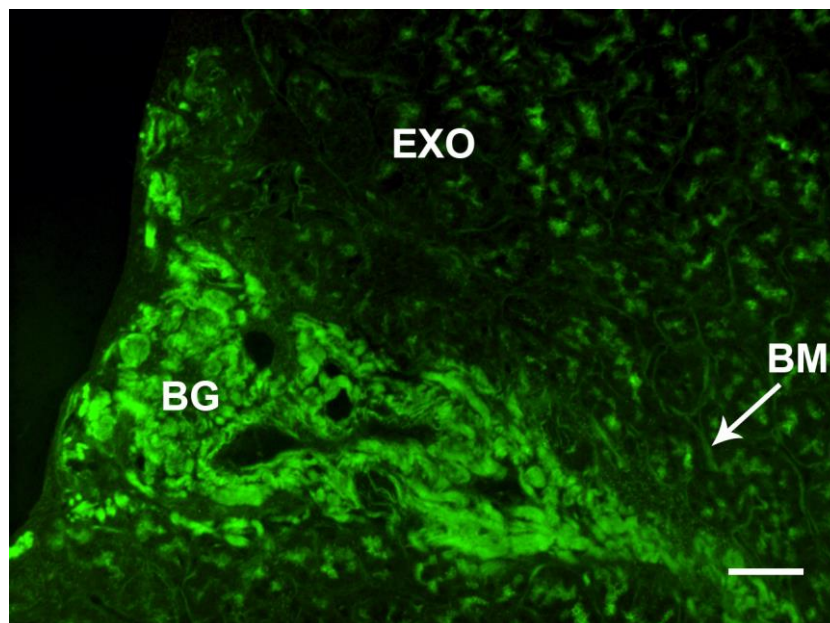


Abb. 68 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe, Bindegewebe, Bindung von RCA-FITC

SB = 25 μ m

Das Bindegewebe (BG) um die Sekretgängen und kleinen Gefäße hebt sich deutlich vom exokrinen Pankreasgewebe (EXO) ab. Die Basalmembranen (BM) der Azini treten hervor. Auch die luminalen Bereiche der Azini zeigen eine starke Fluoreszenz.

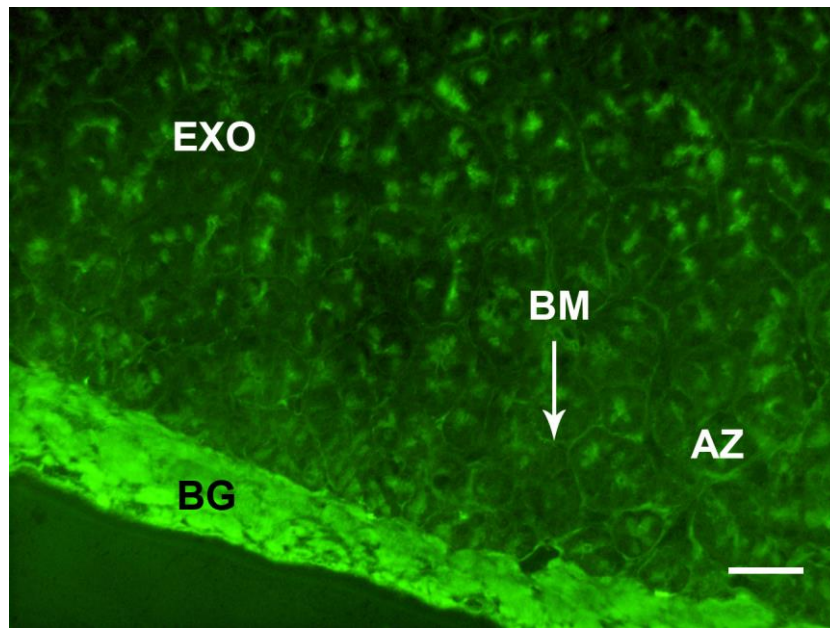


Abb. 69 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und BG-Kapsel, Bindung von RCA-FITC

SB = 25 μ m

Die Bindegewebskapsel (BG) um das Organ zeigt eine starke Bindung von RCA. Die Azini (AZ) sind von einer fluoreszierenden Basalmembran (BM) umgeben, die zusammen mit den feinen Bindegewebssepten die Drüsenzini gut abgrenzen. EXO = exokrines Pankreasgewebe

3.3. Lektinbindungsstellennachweis für N-Acetyl-D-Galaktosamin bindende Lektine

3.3.1. Bindungsstellen für Dolichos biflorus Agglutinin (DBA)

Bei der Inkubation der Gewebeschnitte mit DBA konnten keine Bindungsstellen mit dem Fluoreszenzmikroskop aufgefunden werden.

3.3.2. Bindungsstellen für Griffonia simplicifolia 1 Agglutinin (GSL-1)

Bei der Inkubation der Pankreasproben mit GSL-1-FITC zeigt sich insgesamt eine mäßige fluoreszierende Reaktion. Die Zellmembranen im Bindegewebe sind gut erkennbar, das Bindegewebe selbst reagiert nur sehr leicht positiv, sodass die Grenze zum exokrinen Pankreasgewebe gut sichtbar ist. Das exokrine Pankreasgewebe selbst weist eine leichte homogene Fluoreszenz auf.

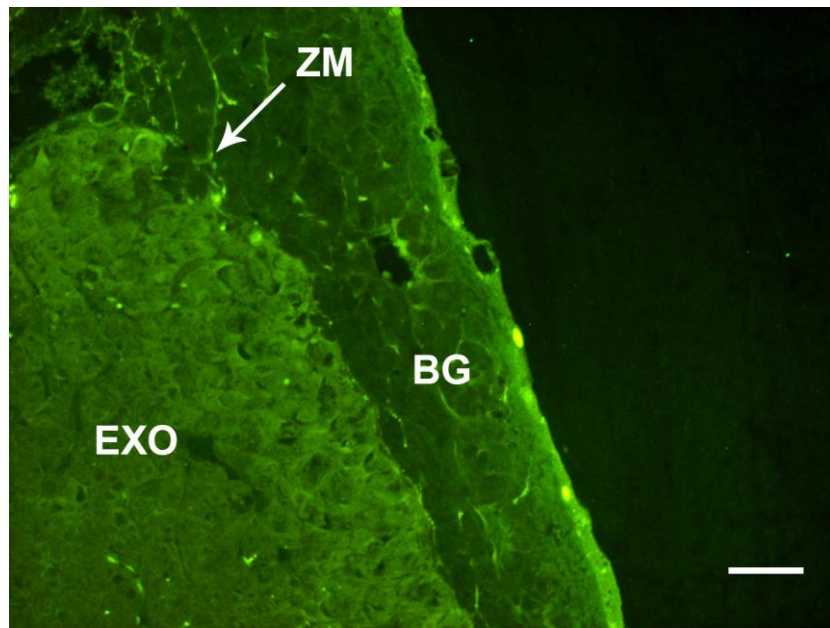


Abb. 70 Pankreas Strauß, Bindegewebskapsel, Bindung von GSL-1-FITC

SB = 25 μ m

Die Zellmembranen (ZM) der Bindegewebszellen (BG) heben sich vom homogenen Zytoplasma ab. EXO = exokrines Pankreasgewebe

3.3.3. Bindungsstellen für Saphora japonica Agglutinin (SJA)

Im Rahmen der lektinhistochemischen Untersuchungen konnten bei der Inkubation mit SJA-FITC beim Pankreas des Straußes keine Lektinbindungsstellen festgestellt werden.

3.4. Lektinbindungsstellennachweis für Galaktose und N-Acetyl-D-Galaktosamin bindende Lektine

3.4.1. Bindungsstellen für Glycine max Agglutinin (SBA)

Sowohl im exokrinen als auch im endokrinen Pankreasgewebe gibt es Bindungsstellen für SBA. Die exokrinen Drüsenzellen besitzen ein homogenes, schwach positives Zytoplasma. Das Bindegewebe erscheint in schwacher Fluoreszenz. Das endokrine Inselgewebe hebt sich durch die etwas stärkere Fluoreszenz leicht vom exokrinen Pankreasgewebe hervor (Abb. 71). Dies basiert auf einer Bindungsfähigkeit der endokrinen Granula für SBA.

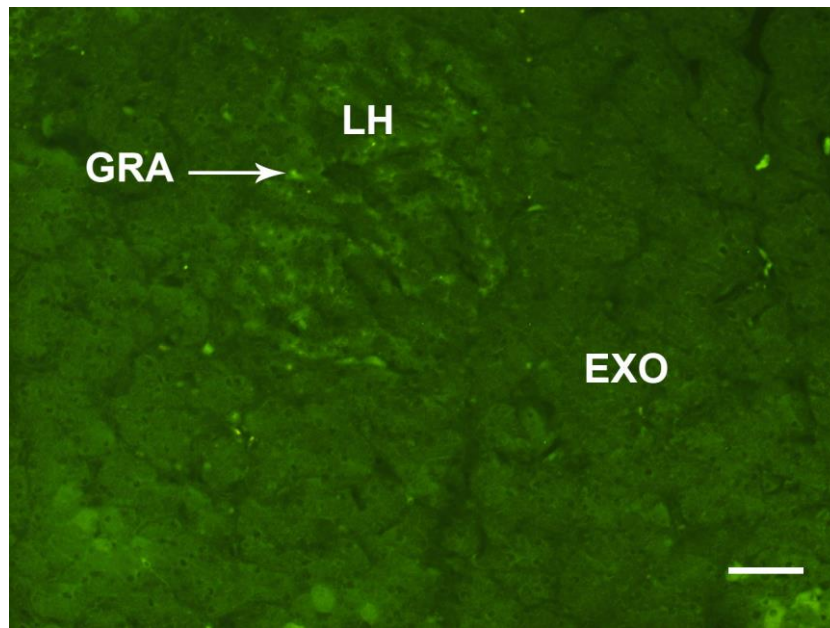


Abb. 71 Pankreas Strauß, exokrines und endokrines Gewebe, Bindung von SBA-FITC

SB = 25 μ m

Das schwach inhomogen fluoreszierende Zytoplasma der Azinuszellen des exokrinen Gewebes (EXO) weist Bindungsstellen für SBA auf. Die Langerhans-Inseln (LH) heben sich durch die Fluoreszenz ihrer Granula (GRA) hervor.



Abb. 72 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe, Bindegewebskapsel, Bindung von SBA-FITC

SB = 25 μ m

Die Bindegewebskapsel (BG) um das exokrine Pankreasgewebe (EXO) weist eine leichte homogene Fluoreszenz auf, wobei die Zellmembranen (ZM) eine etwas stärkere Bindungsfähigkeit aufweisen. Das Zytoplasma der Azini (AZ) zeichnet sich durch eine mäßige inhomogene Fluoreszenz aus.

3.4.2. Bindungsstellen für *Sambucus nigra* Agglutinin (SNA)

Nach Inkubation des Pankreasgewebes mit dem Lektin SNA lässt sich eine mäßige Bindungsbereitschaft des Gewebes für das Lektin feststellen. Das Zytoplasma der Azinuszellen weist eine sehr geringe homogene Fluoreszenz auf. Die Zellkerne zeigen keine Reaktion. Das Epithel der Sekretgänge und das Bindegewebe weisen Bindungsstellen für SNA auf. Das endokrine Pankreasgewebe zeigt eine homogene, sehr schwache Fluoreszenz, wobei sich die Zellkerne dieser Inselzellen vom Zytoplasma aufgrund der fehlenden Fluoreszenz abheben. Das Endothel der Gefäße ist schwach positiv. Die Erythrozyten innerhalb dieser Gefäße zeigen allerdings eine hohe Bindungsfähigkeit für SNA (Abb. 74/75).

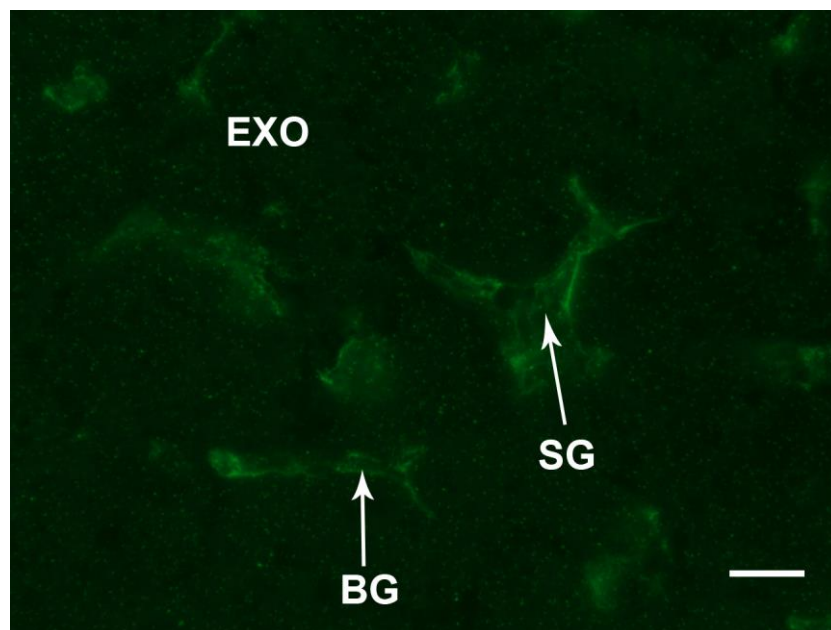


Abb. 73 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Sekretgänge, Bindung von SNA-FITC

SB = 50 μ m

Die Sekretgänge (SG) und Bindegewebssepten (BG) weisen Bindungsstellen für SNA auf. EXO = exokrines Gewebe

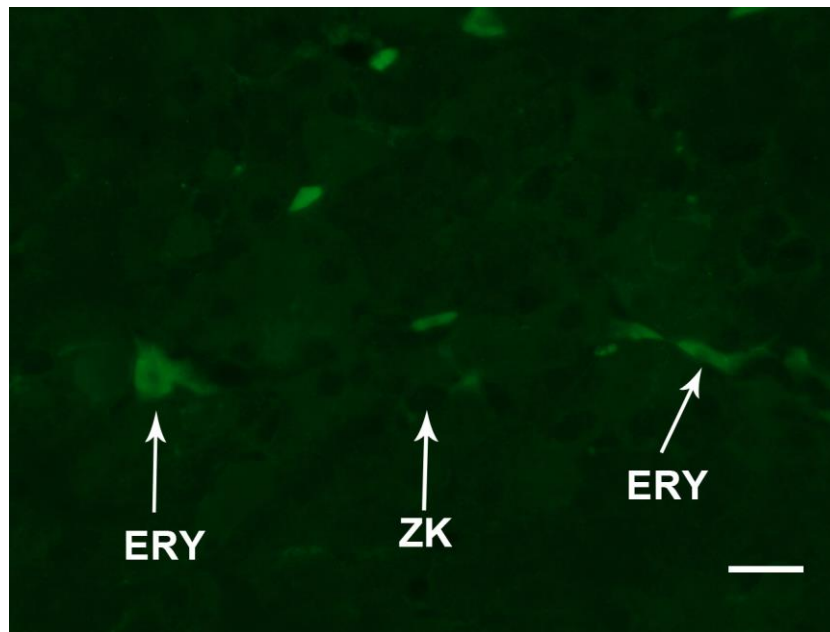


Abb. 74 Pankreas Strauß, endokrines Gewebe, Bindung von SNA-FITC

SB = 50 μ m

Die Erythrozyten (ERY) in den kleinen Kapillaren weisen eine hohe Bindungsfähigkeit von SNA auf. Das endokrine Pankreasgewebe zeigt eine homogene, sehr schwache Fluoreszenz. Die Zellkerne (ZK) der Inselzellen heben sich durch ihre fehlende Bindung mit SNA ab.

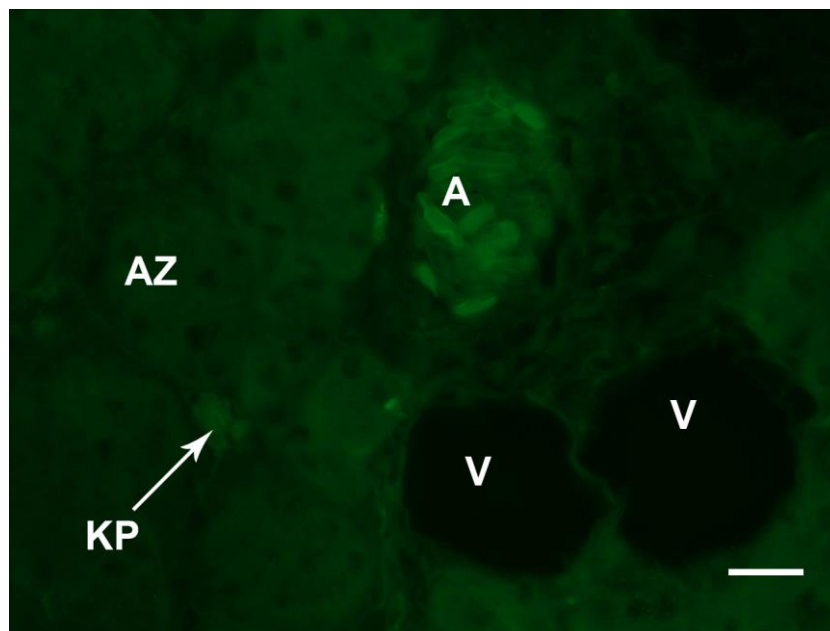


Abb. 75 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Gefäße, Bindung von SNA-FITC

SB = 50 μ m

Das Zytoplasma der exokrinen Pankreaszellen besitzt ein mäßiges Bindungsvermögen für SNA und weist eine homogene Fluoreszenz auf. Die Reaktion der Zellkerne ist dagegen negativ. Das Endothel der Gefäße ist schwach positiv. Erythrozyten innerhalb der Gefäße zeigen eine hohe Bindungsbereitschaft für SNA. A = Arterie, V = Vene, KP = Kapillare, AZ = Azinus

3.5. Lektinbindungsstellennachweis für N-Acetyl-D-Glukosamin und N-Acetyl-D-Neuraminsäure bindende Lektine

3.5.1. Bindungsstellen für *Triticum vulgare* Agglutinin (WGA)

Die Bindung von WGA-FITC ist sehr stark. Die Fluoreszenz zeigt sich besonders intensiv im endokrinen Anteil. Die Pankreasinseln treten mit ihren Granula leuchtend aus dem umgebenden exokrinen Pankreasgewebe hervor (Abb. 76/77). Die Zellkerne sowohl der exokrinen, als auch der endokrinen Zellen besitzen keine Fluoreszenz und heben sich damit deutlich vom fluoreszierenden Zytoplasma ab. Die im gesamten Organ, besonders aber im endokrinen Teil enthaltenen Gefäß-/Kapillarendothelien weisen eine deutliche Bindung zu WGA auf. Die Basalmembranen und auch die lateralen Zellmembranen der Azinuszellen treten ebenfalls deutlich sichtbar in Erscheinung. In den Lumina der Drüsenazini können bei hoher mikroskopischer Vergrößerung sehr kleine Zymogengranula beobachtet werden (Abb. 82). Im Epithel der Sekretgänge kann das Fluoreszein-positive Sekret ebenfalls nachgewiesen werden. Das Endo- und Perineurium der peripheren Nervenstränge zeigt eine starke Bindung mit WGA (Abb. 78).

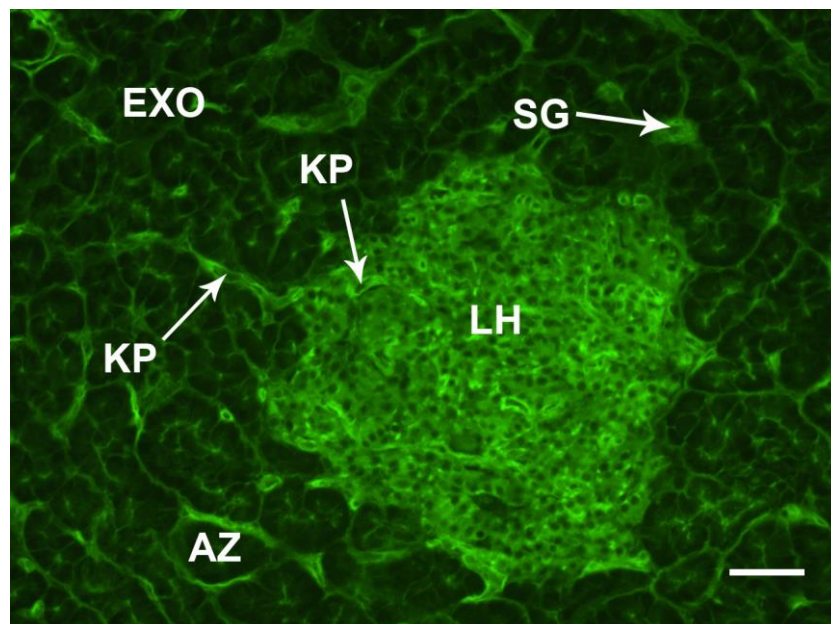


Abb. 76 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Langerhans-Insel, Bindung von WGA-FITC

SB = 25 μ m

Die Langerhans-Inseln (LH) heben sich aufgrund ihrer starken Bindungsfähigkeit für WGA-FITC vom exokrinen Gewebe (EXO) stark ab. Das Endothel der Kapillaren (KP) zeigt ebenfalls eine sehr deutliche Bindungsbereitschaft zu WGA. Auch das Epithel der Sekretgänge (SG) besitzt eine starke Fluoreszenz. AZ = Azinus

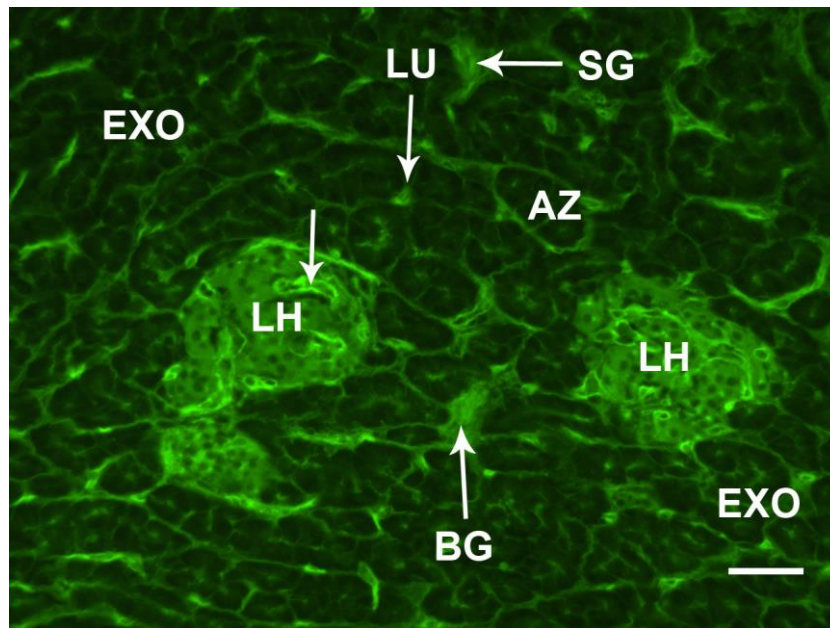


Abb. 77 Pankreas Strauß, exokrines und endokrines Gewebe, Bindung von WGA-FITC

SB = 25 μ m

Die Kapillaren (KP) innerhalb der Langerhans-Inseln (LH) reagieren stark positiv mit WGA. Die endokrinen Zellen sind homogen fluoreszierend, ihr Zellkern bindet kein WGA. Das Bindegewebe (BG) und die Sekretgänge (SG) zeigen eine starke Fluoreszenz. LU = Lumen, EXO = exokrines Pankreasgewebe

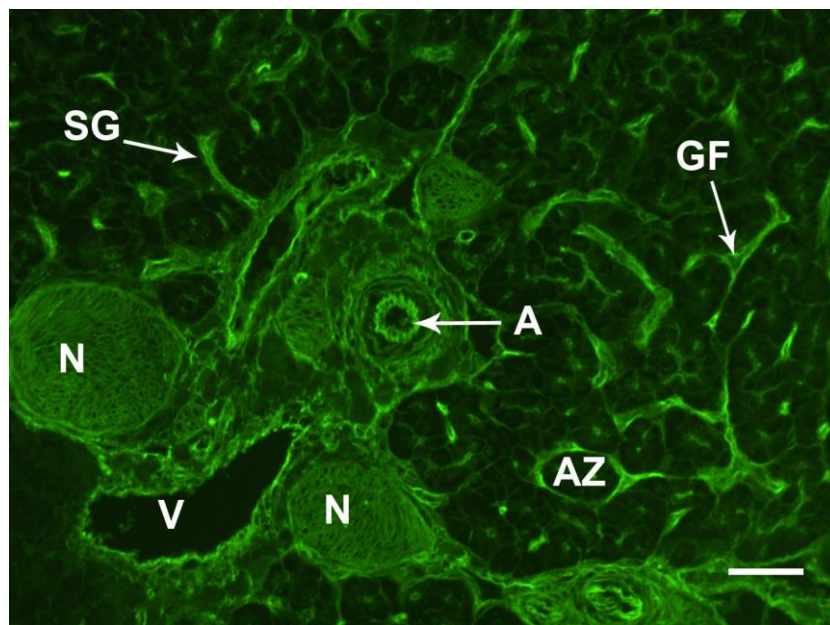


Abb. 78 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe, Gefäße, Nerven, Bindung von WGA-FITC

SB = 25 μ m

Das Endothel der Arterien (A) und Venen (V) zeigt ein hohes Bindungsvermögen von WGA, ebenso das Peri- und Endoneurium der peripheren Nervenstränge (N). Die Azini (AZ) sind durch die starke Reaktion der Basal- und Zellmembranen deutlich abgrenzbar. GF = Gefäß, SG = Sekretgang

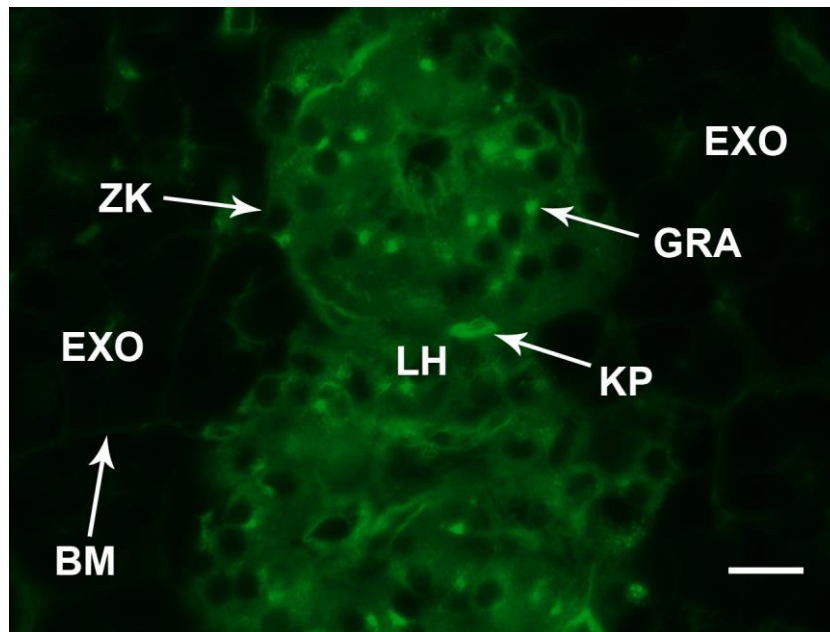


Abb. 79 Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Bindung von WGA-FITC

SB = 50 μ m

Innerhalb der Langerhans-Insel (LH) ist das homogen fluoreszierende Zytoplasma der endokrinen Zellen sichtbar. Die Granula (GRA) und Kapillaren (KP) treten noch stärker fluoreszierend in Erscheinung. Die Zellkerne (ZK) der Inselzellen reagieren nicht mit WGA. BM = Basalmembran, EXO = exokrines Gewebe

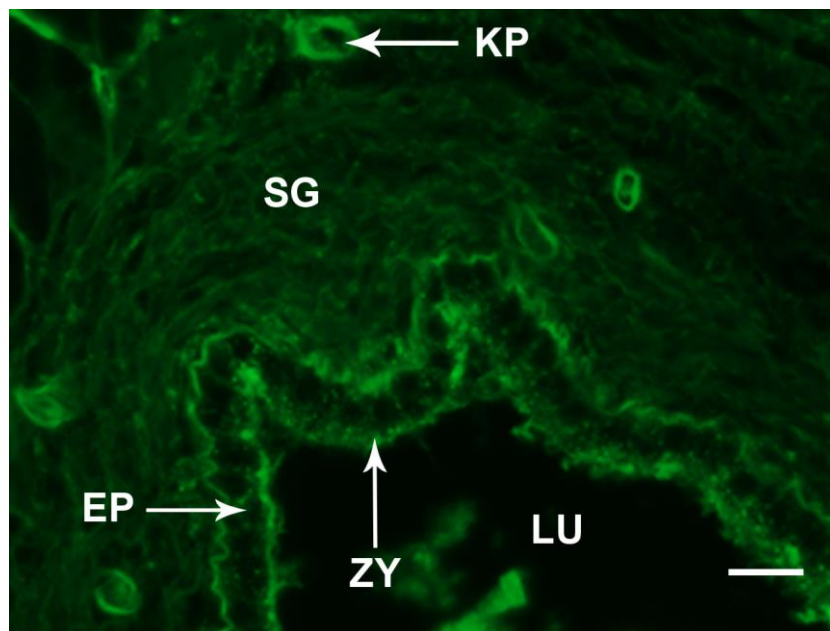


Abb. 80 Pankreas Strauß, Sekretgang, Bindung von WGA-FITC

SB = 50 μ m

Das Epithel (EP) der Sekretgänge (SG) weist ein hohes Bindungsvermögen für WGA auf. Vor allem die apikale Zellmembran mit den Zymogengranula (ZY) zeigt eine starke Fluoreszenz. LU = Lumen, KP = Kapillare

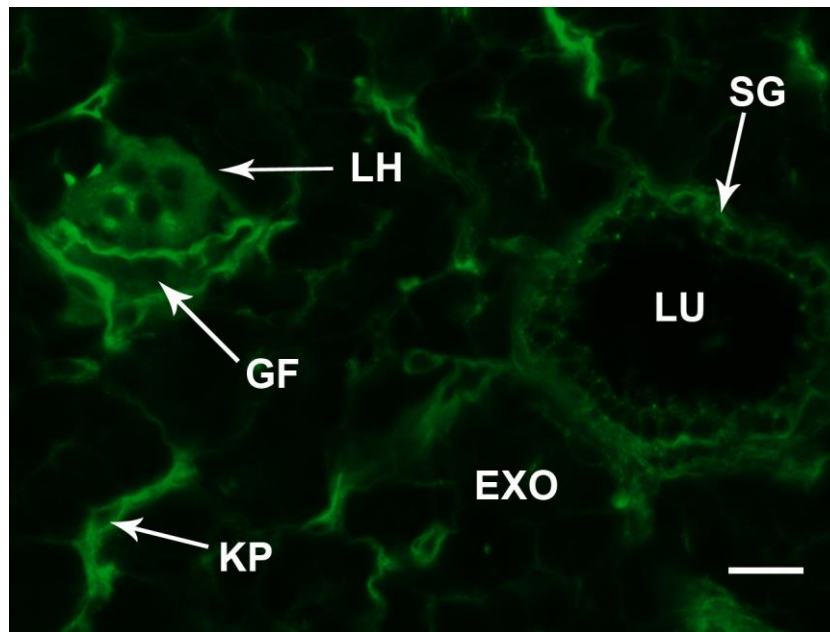


Abb. 81 Pankreas Strauß, kleine Langerhans-Insel und Sekretgang, Bindung von WGA-FITC

SB = 50 μ m

Die Langerhans-Insel (LH) erscheint stark fluoreszierend im Gegensatz zum exokrinen Pankreasgewebe (EXO). Hier treten vor allem die Kapillaren (KP) und größere Gefäße (GF) durch ihre intensive Bindung von WGA stark hervor. Auch das Epithel des Sekretganges (SG) zeigt eine hohe Bindungsbereitschaft für WGA. LU = Lumen

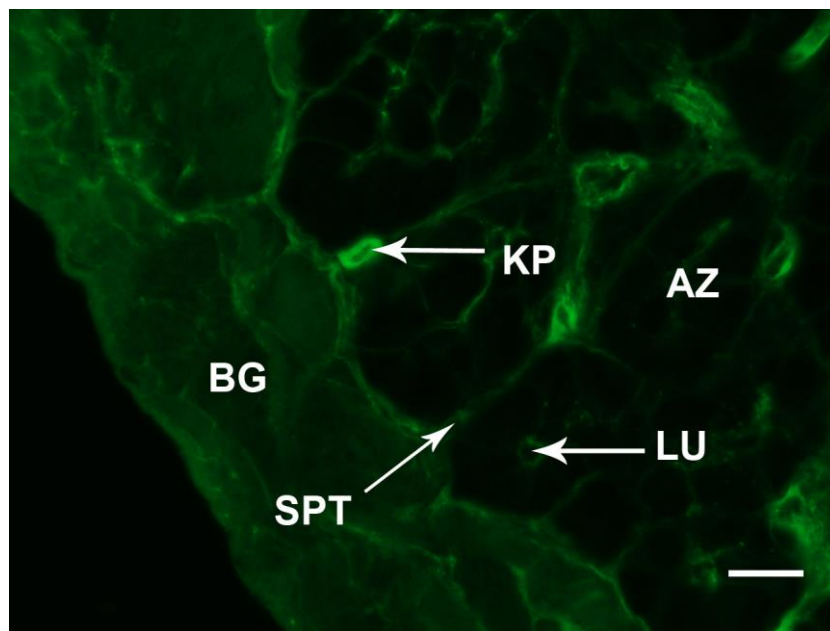


Abb. 82 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe, Bindegewebskapsel, Bindung von WGA-FITC

SB = 50 μ m

Das Bindegewebe (BG) zeigt eine mäßige Fluoreszenz, die Basalmembranen der Azinuszellen reagieren deutlich positiv. Die Bindegewebssepten (SPT) entspringen der Bindegewebskapsel und ziehen zwischen die Drüsenzazini (AZ). Die Kapillaren (KP) besitzen viele Bindungsstellen für WGA. LU = Azinulumen

3.5.2. Bindungsstellen für *Triticum vulgare* Agglutinin succinyliert (WGAs)

Das succinylierte Weizenkeimagglutinin weist wie WGA zahlreiche Bindungsstellen im Pankreasgewebe auf. Die stärkste Intensität erweist sich in den Gefäßendothelien sowohl in exokrinen, als auch in endokrinen Organteilen (Abb. 84/85). Die Basalmembranen und lateralen Membranen der Azinuszellen sind nach Inkubation mit WGAs-FITC deutlich erkennbar. Auch die Ductus intra- und interlobulares zeigen eine intensive Fluoreszenz, wobei in deren Lumina und auch in den Azinusulmina das produzierte Sekret ebenfalls fluoresziert (Abb. 83). Das Bindegewebe innerhalb des Organs reagiert ebenfalls positiv. Das endokrine Inselgewebe weist eine starke Bindungsfähigkeit für WGAs-FITC auf (Abb. 84). Neben den nicht reaktiven Zellkernen findet man im homogenen Zytoplasma der Inselzellen stark fluoreszierende Granula, die bereits bei den Übersichtsvergrößerungen deutlich sichtbar sind.

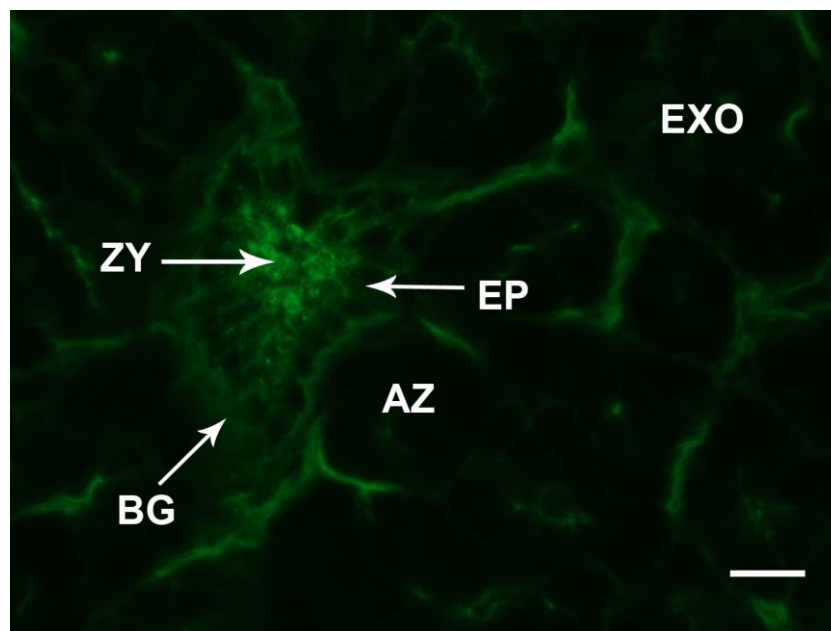


Abb. 83 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Sekretgang, Bindung von WGAs-FITC

SB = 50 µm

Das Epithel (EP) des Sekretganges zeigt eine hohe Bindungsbereitschaft für WGAs. Im Lumen des Ausführungsganges befinden sich stark fluoreszierende Zymogengranula (ZY). Das Bindegewebe (BG) besitzt ebenfalls Bindungsstellen für WGAs. AZ = Azinus, EXO = exokrines Gewebe

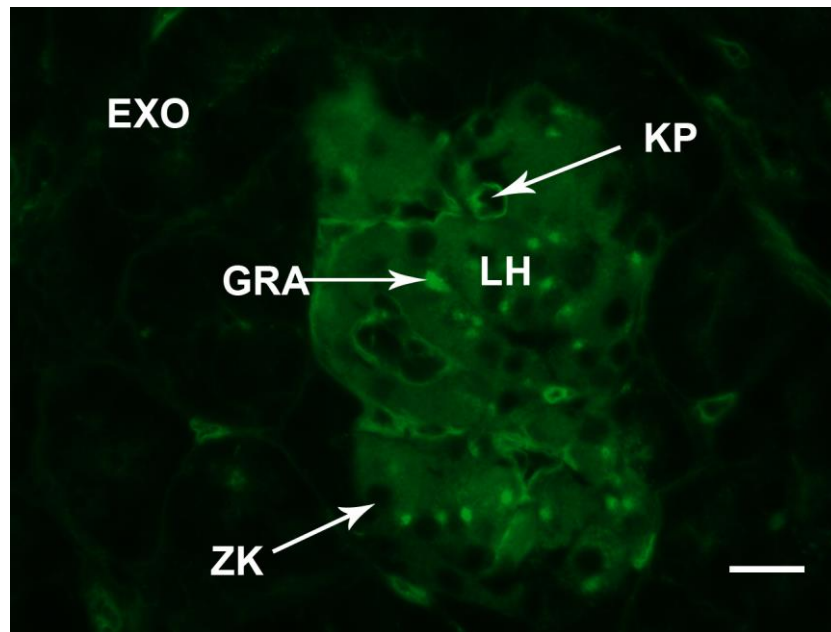


Abb. 84 Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Bindung von WGAs-FITC

SB = 50 μ m

Das endokrine Gewebe der Langerhans-Insel (LH) erscheint stark fluoreszierend, die Granula (GRA) der Inselzellen treten stark positiv hervor. Die Kapillaren (KP) zeigen eine starke Bindung von WGAs, die Zellkerne (ZK) hingegen bleiben negativ. EXO = exokrines Gewebe

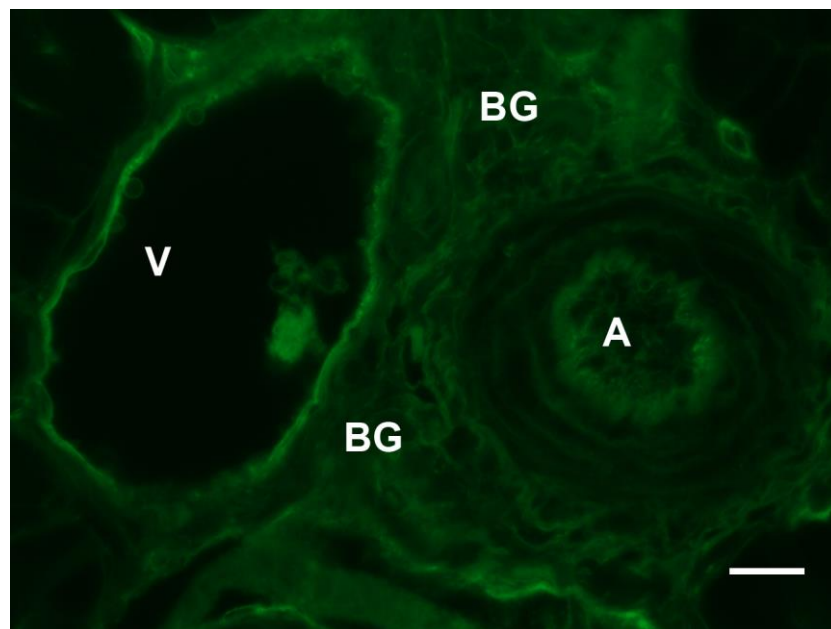


Abb. 85 Pankreas Strauß, Gefäße, Bindung von WGAs-FITC

SB = 50 μ m

Das Endothel der Vene (V) und Arterie (A) zeigt eine intensive Bindung von WGAs, ebenso das umgebende Bindegewebe (BG).

3.6. Lektinbindungsstellennachweis für L-Fucose bindende Lektine

3.6.1. Bindungsstellen für *Ulex europaeus* Agglutinin (UEA-1)

Das *Ulex europaeus* Agglutinin weist zahlreiche Bindungsstellen und eine intensive Fluoreszenz im Pankreasgewebe des Straußes auf. Die Basalmembranen zeigen eine starke Reaktion, ebenso das interstitielle Bindegewebe. Das homogen erscheinende Zytoplasma der Azini lässt eine Abgrenzung in basale und apikale Bereiche nicht zu. Die Lumina der Azini enthalten UEA-1 positives Material. Die Ausführungsgänge zeigen ebenfalls eine deutlich positive Reaktion. Die Inseln erscheinen insgesamt etwas stärker fluoreszierend als das exokrine Pankreasgewebe.

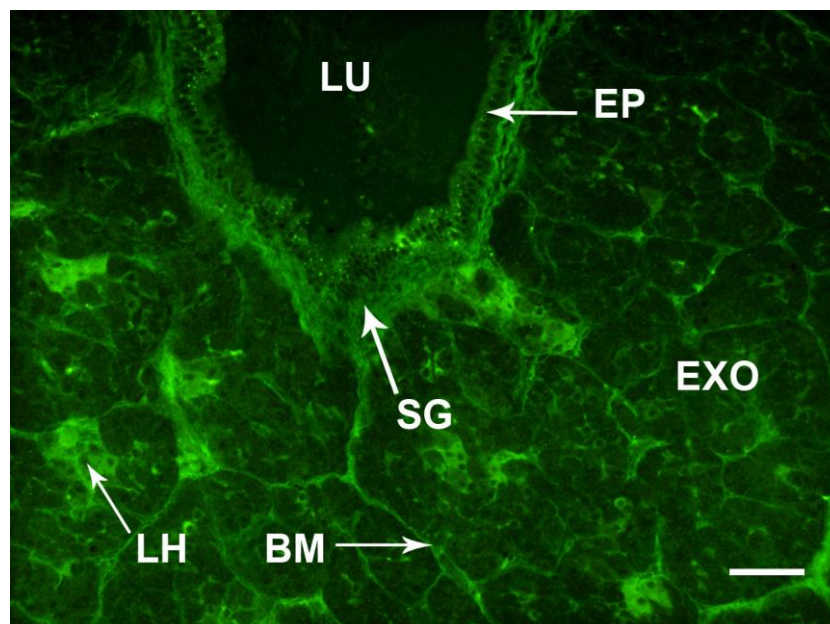


Abb. 86 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Sekretgang, Bindung von UEA-1-FITC

SB = 25 μ m

Die endokrinen Zellen der Langerhans-Insel (LH) links im Bild besitzen starke Fluoreszenz. Die Wand der Sekretgänge (SG) zeigt ebenso eine starke Bindung von UEA-1. EXO = exokrines Gewebe, LU = Lumen, EP = Epithel, BM = Basalmembran

3.7. Lektinbindungsstellennachweis für Oligosaccharid bindende Lektine

3.7.1. Bindungsstellen für *Maackia amurensis* Leukoagglutinin 1 (MAL-1)

MAL-1 weist im Pankreasgewebe des Straußes wenige Lektinbindungsstellen auf. Die Basalmembranen sind nicht erkennbar. Der Bereich der Lumina der exokrinen Drüsenazini sticht durch die intensive Fluoreszenz der lateralen und apikalen Zellmembranen sehr deutlich hervor. Das Zytoplasma der Azinuszellen zeigt jedoch nur eine minimale Reaktion mit MAL-1. Die endokrinen Pankreasinseln reagieren negativ (Abb. 88). Bei den Gefäßen erscheinen das Endothel und die Erythrozyten sehr schwach positiv (Abb. 87).

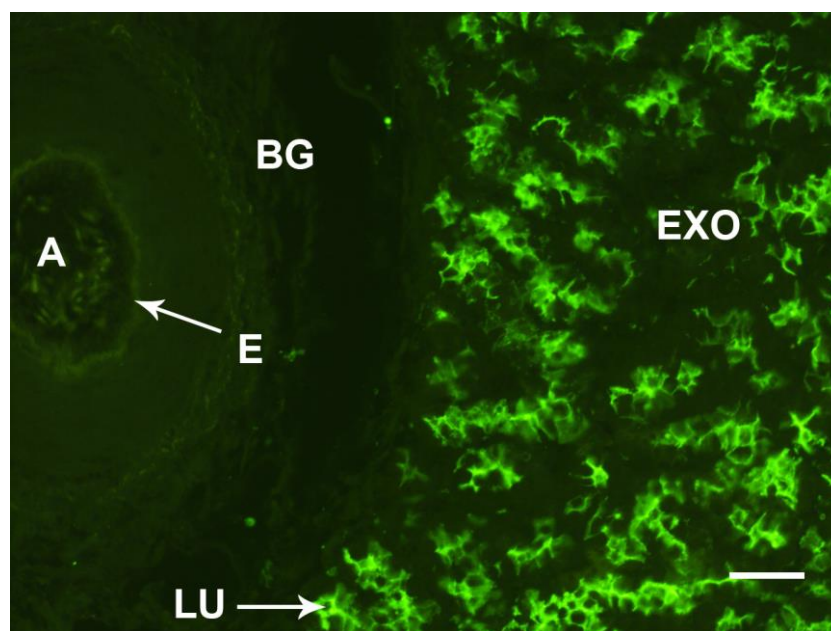


Abb. 87 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Arterie, Bindung von MAL-1-FITC

SB = 25 µm

Die luminalen und lateralen Zellmembranen im Bereich der Azinusalumina (LU) besitzen im exokrinen Pankreasgewebe (EXO) eine starke Bindung von MAL-1. Das Zytoplasma bleibt weitgehend negativ, lediglich am apikalen Pol erscheint es leicht fluoreszierend. Das Endothel (E) der Arterie (A) besitzt eine minimale Fluoreszenz. BG = Bindegewebe

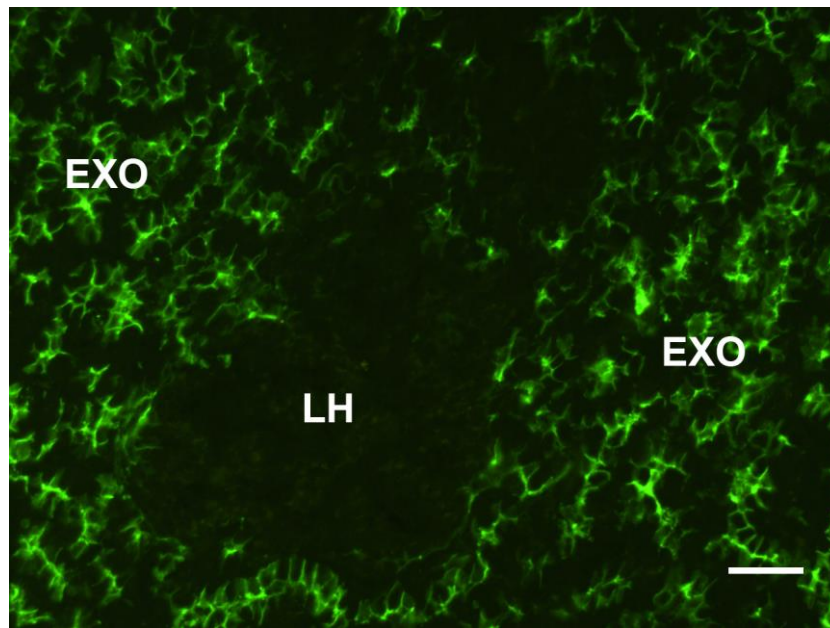


Abb. 88 Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Bindung von MAL-1-FITC

SB = 25 μm

Die Langerhans-Insel (LH) hebt sich durch ihre fehlende Fluoreszenz deutlich vom umliegenden exokrinen Pankreasgewebe (EXO) ab.

3.7.2. Bindungsstellen für *Phaseolus vulgaris* E Agglutinin (PHA-E)

Sowohl die Basalmembran als auch die lateralen und apikalen Zellmembranen der Drüsenazini zeigen eine positive Reaktion nach Inkubation mit FITC-markiertem PHA-E (Abb. 89). Das inhomogen erscheinende Zytoplasma der Azinuszellen enthält im apikalen Bereich kleine Sekretgranula. Eine granuläre Fluoreszenz zeigt sich zudem in den Lumina der Azini und der Ausführungsgänge. Das Epithel der Ductus intra- und interlobulares erweist sich ebenfalls als positiv. Das Inselparenchym weist auch Bindungsstellen zu PHA-E auf (Abb. 91). Darin enthaltene fluoreszierende Granula kennzeichnen dieses endokrine Gewebe.

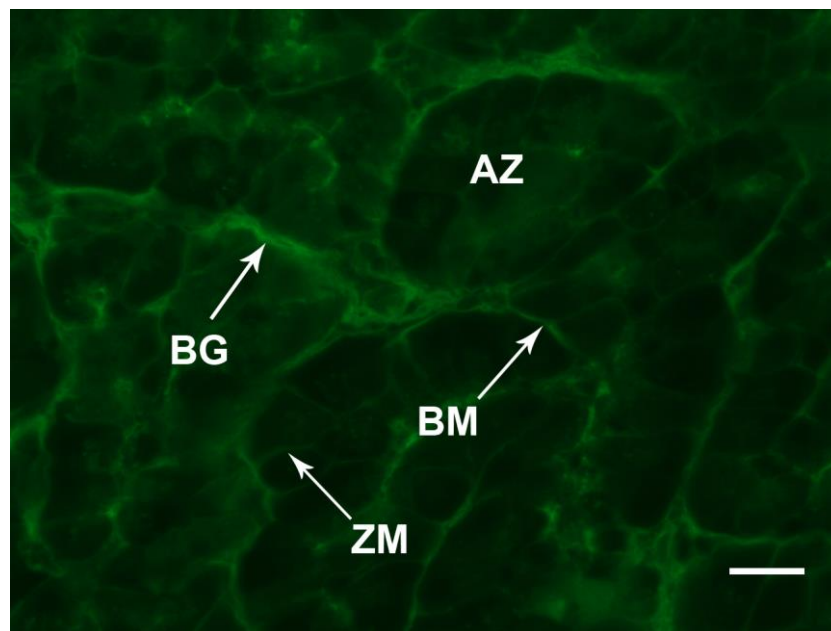


Abb. 89 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe, Bindung von PHA-E-FITC

SB = 50 μ m

Die Basalmembranen (BM) der Drüsenazini (AZ) und das Bindegewebe (BG) zwischen den Drüsenazini zeigen eine deutliche Bindung von PHA-E. Auch die lateralen Zellmembranen (ZM) der Azinuszellen fluoreszieren leicht.

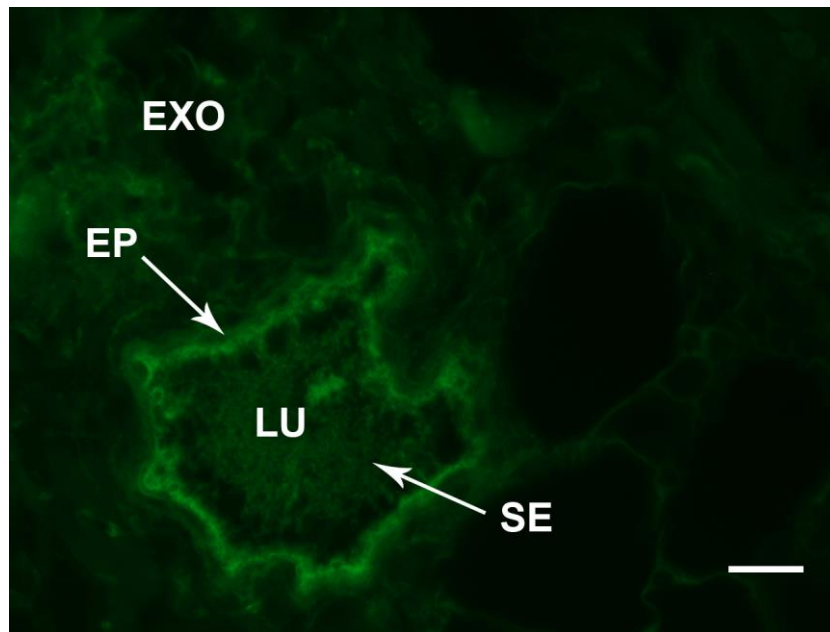


Abb. 90 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Sekretgang, Bindung von PHA-E-FITC

SB = 50 μ m

Das Epithel (EP) des Sekretganges erscheint durch den hohen Zymogenanteil stark fluoreszierend. Im Lumen (LU) dieses Ausführungsganges befindet sich PHA-E-positives Verdauungssekret (SE). EXO = exokrines Pankreasgewebe

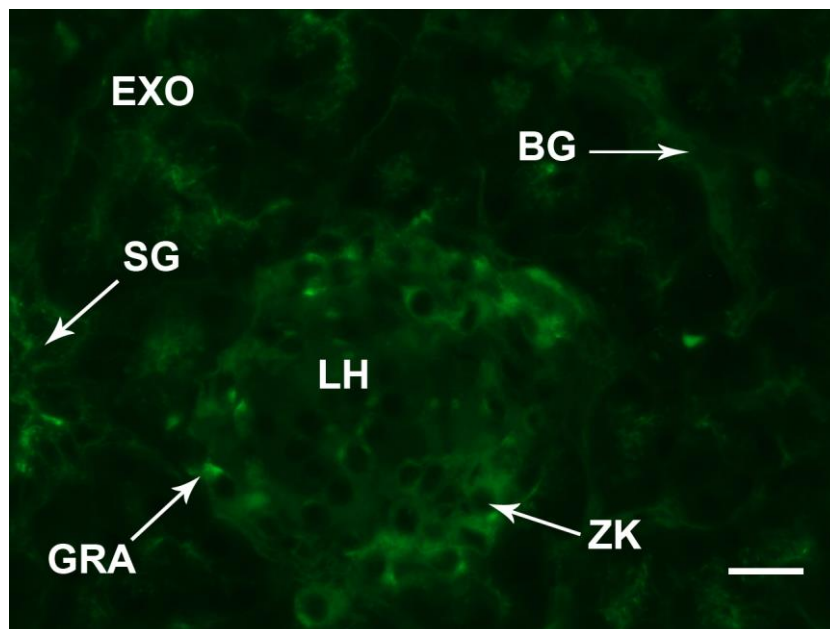


Abb. 91 Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Bindung von PHA-E-FITC

SB = 50 μ m

Die endokrinen Zellen der Langerhans-Inseln (LH) besitzen ein homogen fluoreszierendes Zytoplasma mit einem geringen Anteil an kleinen fluoreszierenden Granula (GRA). Die Zellkerne (ZK) reagieren nicht mit PHA-E.
SG = Sekretgang, EXO = exokrines Gewebe, BG = Bindegewebe

3.7.3. Bindungsstellen für *Phaseolus vulgaris* L Agglutinin (PHA-L)

Im Pankreas des Straußes gibt es Bindungsstellen für PHA-L. Das exokrine Pankreasgewebe erscheint in leichter homogener Fluoreszenz. Das Epithel der Sekretgänge und das umgebende Bindegewebe erscheint etwas stärker positiv. Die Gefäße heben sich aufgrund der Bindungsfähigkeit ihrer Endothelien für PHA-L hervor, Erythrozyten innerhalb dieser Gefäße sind deutlich positiv. Die Basalmembranen reagieren ebenfalls positiv.

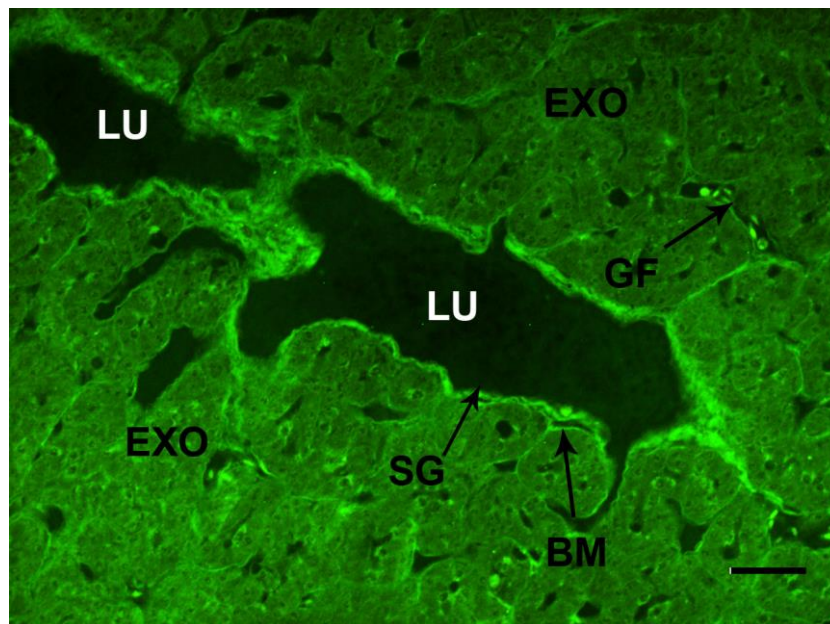


Abb. 92 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Sekretgänge, Bindung von PHA-L-FITC

SB = 25 μ m

Das homogene Zytoplasma der exokrinen Zellen (EXO) zeigt eine mäßige Fluoreszenz. Die Basalmembranen (BM) reagieren ebenfalls positiv. Das Bindegewebe um die Sekretgänge (SG) zeigt eine hohe Bindungsbereitschaft für PHA-L. Die Gefäße (GF) beinhalten stark positive Erythrozyten. LU = Lumen

Tab. 11 Übersicht über die Lektinbindungsstellen im Pankreas des Straußes

Pflanzenlektin	exo	endo	endokrine Granula	BM	Sekretgänge	Sekret	BG	Gefäße
ConA	++	+	-	-	-	-	-	-
LCA	++	++	+++	-	+	-	-	+
PSA	+	++	+++	++	+	+++	-	-
PNA	-	-	-	-	-	-	-	-
RCA	+++	-	-	++	-	+	+++	+
DBA	-	-	-	-	-	-	-	-
GSL-1	++	-	-	-	-	-	++	-
SJA	-	-	-	-	-	-	-	-
SBA	+	++	+	++	-	-	+	-
SNA	+	+	-	-	+	-	+	+
WGA	+	+++	+++	++	++	+	++	+++
WGAs	+	+++	+++	++	++	++	++	+++
UEA-1	++	+++	-	+++	++	+	++	+++
MAL-1	+	-	-	-	-	++	-	+
PHA-E	+	+	+	++	+	+	++	+
PHA-L	++	+	+	+	++	+	++	-

Grau unterlegte Zeilen enthalten biotinylierte Lektine.

- = negativ, + = schwach positiv, ++ = deutlich positiv, +++ = sehr stark positiv

exo = exokrines Pankreasgewebe, **endo** = endokrines Pankreasgewebe,
BM = Basalmembran, **BG** = Bindegewebe

3.8. Ergebnisse der Zuckerhemmung

Die stark positiv reagierenden FITC-gekoppelten Lektine ConA, LCA, PSA, RCA, WGA, WGAs, UEA-1, PHA-E und PHA-L wurden nach Vorinkubation mit den entsprechenden o.g. Hemmzuckern bzw. mit Essigsäure (PHA-E und PHA-L) hinsichtlich ihrer Bindungsfähigkeit erneut untersucht. Dabei konnte bei allen Präparaten gezeigt werden, dass die Bindung des jeweiligen Lektins durch den entsprechenden Zucker vollständig oder zumindest deutlich gehemmt wurde. Dies bedeutet, dass die bereits erwähnten Lektinbindungen als spezifische Bindungen angesehen werden können.

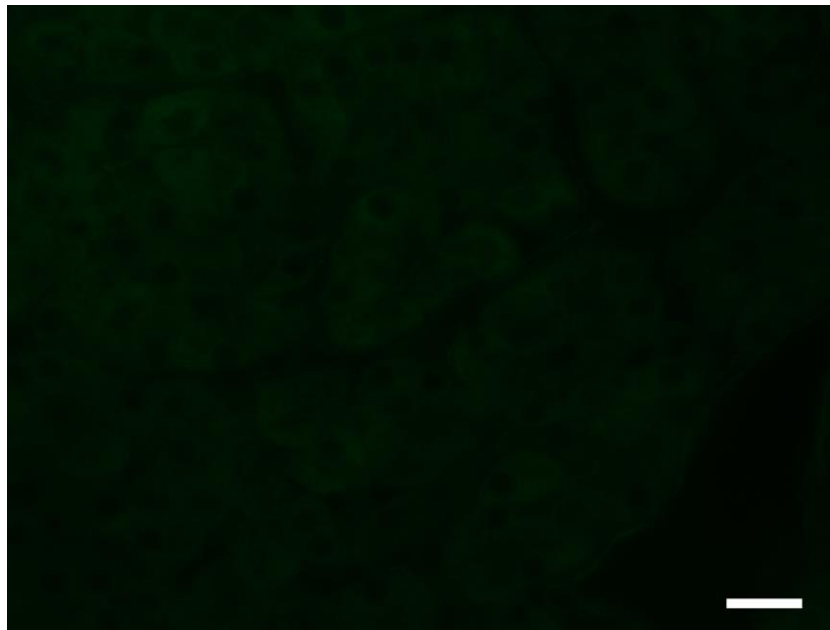


Abb. 93 Pankreas Strauß, exokrines Pankreasgewebe, Bindung von ConA-FITC mit anschließendem Einsatz des Hemmzuckers Methyl- α -Mannopyranoside¹

SB = 25 μ m

Nach Vorinkubation des Präparates mit dem spezifischen Hemmzucker Methyl- α -Mannopyranoside¹ konnte eine Lektinbindung des Gewebes zu ConA fast vollständig unterbunden werden.

4. Immunhistochemische Untersuchungen

4.1. Immunhistochemischer Nachweis von „smooth muscle actin“ (α -SMA)

α -SMA kann ausschließlich in den Zellen der glatten Muskulatur nachgewiesen werden. Glatte Muskelzellen finden sich als Tunica media von Arterien und Venen. Weiters lässt sich α -SMA in den mittleren und größeren Drüsenausführungsgängen nachweisen. Das Epithel der Sekretgänge lässt sich durch seine immunnegative Reaktion deutlich von der immunpositiven glatten Muskulatur abgrenzen. Alle weiteren Strukturen des Pankreas reagieren negativ auf den immunhistochemischen Nachweis von α -SMA.

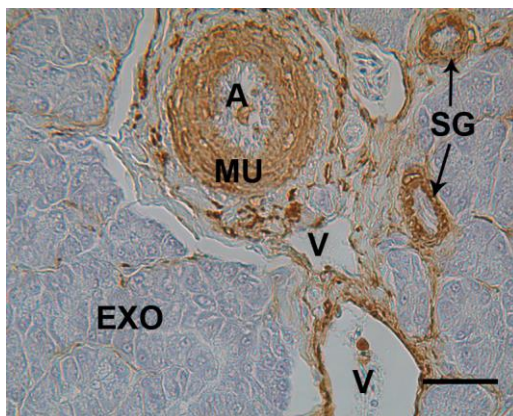


Abb. 94 Pankreas Strauß, Arterie und Venen, Duktus interlobulares, Immunhistochemischer Nachweis von α -SMA

SB = 25 μ m

α -SMA kann in den Zellen der glatten Muskulatur in der Tunica media von Arterien (A) und Venen (V) gefunden werden. Auch in der Muskelschicht (MU) um die größeren Sekretgänge (SG) kann α -SMA nachgewiesen werden. EXO = exokrines Pankreasgewebe

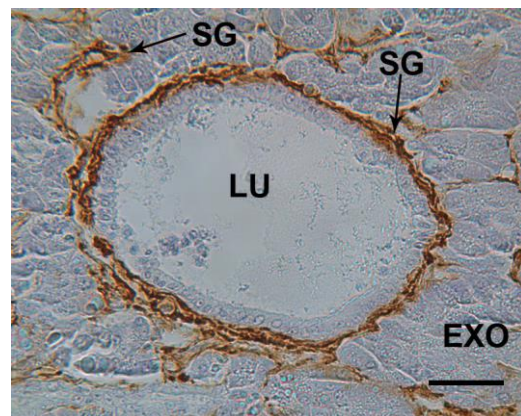


Abb. 95 Pankreas Strauß, Duktus interlobularis, Immunhistochemischer Nachweis von α -SMA

SB = 25 μ m

In der Wand der größeren Ausführungsgänge (SG) kann α -SMA in der dünnen Schicht glatter Muskelzellen nachgewiesen werden. LU = Lumen, EXO = exokrines Pankreasgewebe

4.2. Immunhistochemischer Nachweis von Myosin

Eine positive Reaktion beim immunhistochemischen Nachweis von Myosin kann in Teilen der Langerhans-Inseln nachgewiesen werden. Hier sind allerdings nur wenige Zellen positiv (Abb. 97). Sie befinden sich teils am Rand der Inseln, teils durchziehen sie das endokrine Pankreasgewebe auch unregelmäßig. Weiters lässt sich Myosin in den exokrinen Drüsenausführungsgängen nachweisen. Es lokalisiert sich im luminalen Bereich des Epithels der Ausführungsgänge (Abb. 96). In den apikalen Zymogenzonen der Azinuszellen ist nur eine sehr schwache immunpositive Reaktion erkennbar.

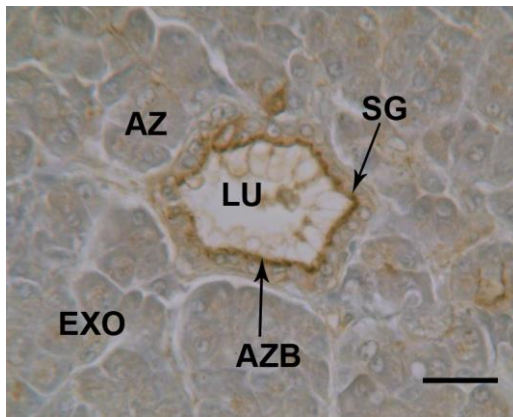


Abb. 96 Pankreas Strauß, Sekretgang, Immunhistochemischer Nachweis von Myosin

SB = 20 µm

Im apikalen Zellbereich (AZB) des Epithels des Sekretganges (SG) lässt sich Myosin nachweisen. AZ = Azinus, EXO = exokrines Gewebe, LU = Lumen

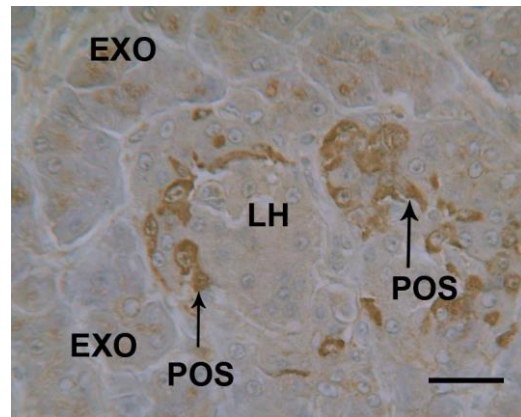


Abb. 97 Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Immunhistochemischer Nachweis von Myosin

SB = 20 µm

In der Langerhans-Insel (LH) inmitten des exokrinen Pankreas (EXO) reagieren nur einige Zellen immunpositiv (POS).

4.3. Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratinen

Eine starke immunpositive Reaktion mit dem Pancytokeratin-Antikörper, der sowohl an saure als auch an basische Cytokeratine bindet, bleibt auf das Epithel des Ausführungsgangsystems beschränkt. Es reagiert besonders am luminalen Saum der Epithelzellen von großen Ausführungsgängen (Abb. 98). Der Zellkern dieser Zellen hebt sich durch seine fehlende Reaktion deutlich vom Zytoplasma ab. Des Weiteren kann eine positive Reaktion im apikalen Saum der Azinuszellen nachgewiesen werden. Alle anderen Strukturen des exokrinen Pankreas reagieren nicht bei diesem immunhistochemischen Nachweis. Im endokrinen Pankreasgewebe lassen sich zwischen den immunnegativen Zellen auch immunpositiv reagierende Zellgruppen finden (Abb. 102/103).



Abb. 98 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe, Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratinen

SB = 100 µm

Eine immunpositive Reaktion ist im Epithel der Drüsenausführungsgänge (SG) und im luminalen Bereich (LU) der Azini zu sehen. EXO = exokrines Gewebe

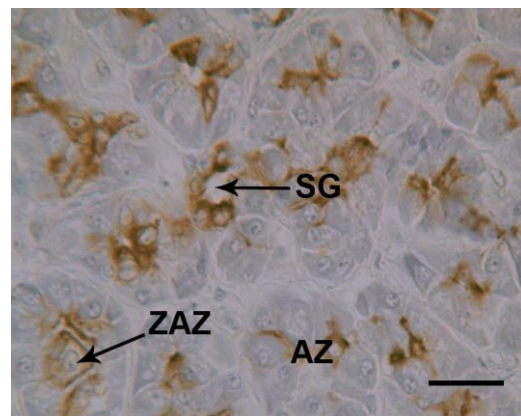


Abb. 99 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe, Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratinen

SB = 20 µm

Die Epithelzellen im luminalen Bereich der Drüsenazini (AZ), der Schaltstückepithelzellen (ZAZ) und der kleinen Sekretgänge (SG) reagieren immunpositiv.

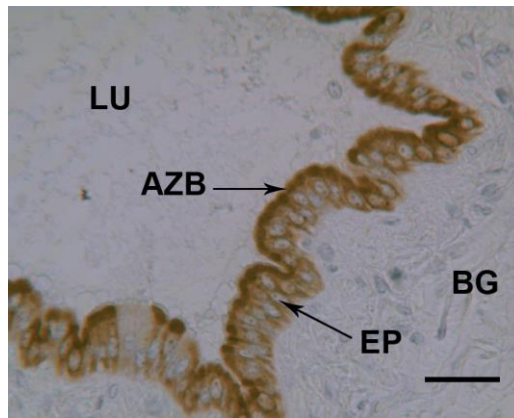


Abb. 100 Pankreas Strauß, Sekretgang, Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratinen

SB = 20 µm

Der apikale Zellbereich (AZB) der hochprismatischen Epithelzellen (EP) des großen Ausführungsganges zeigt eine besonders starke positive Reaktion. BG = Bindegewebe, LU = Lumen



Abb. 101 Pankreas Strauß, Sekretgang, Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratinen

SB = 20 µm

Die Epithelzellen des Sekretganges (SG) weisen eine starke immunpositive Reaktion auf. Die negativen Zellkerne heben sich deutlich vom Zytoplasma ab. AZ = Azinus, LU = Lumen, EXO = exokrines Gewebe

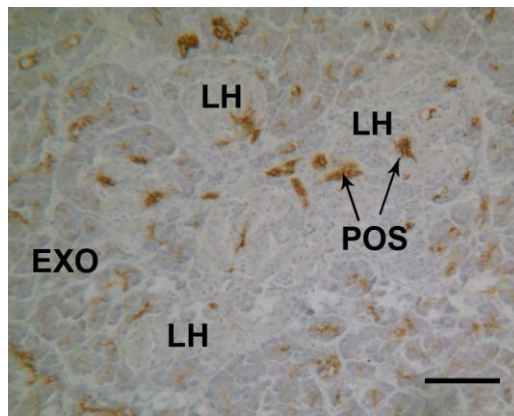


Abb. 102 Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratinen

SB = 100 µm

Im endokrinen Pankreasgewebe (LH) reagiert ein Teil der Zellen immunpositiv (POS). Die restlichen endokrinen Zellen bleiben negativ. EXO = exokrines Pankreasgewebe

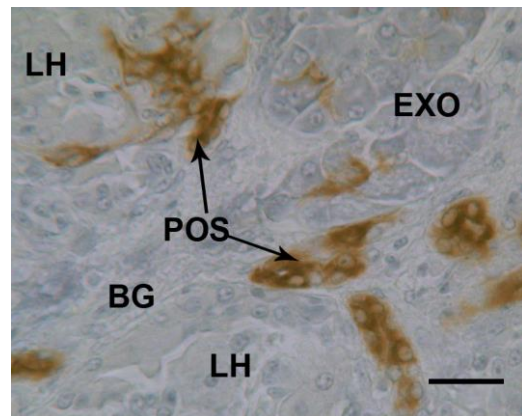


Abb. 103 Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratinen

SB = 20 µm

Einige wenige Zellgruppen sind immunpositiv (POS). Die restlichen endokrinen Zellen der Langerhans-Inseln (LH) und das Bindegewebe (BG) bleiben negativ. EXO = exokrines Pankreasgewebe

4.4. Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin

Im Bereich der Sekretgänge zeigt sich eine stark positive Reaktion der zirkulären Bindegewebsschichten (Abb. 104). Im Epithel der Sekretgänge kann jedoch kein Vimentin nachgewiesen werden. Die exokrinen Drüsenazini sind ebenfalls immunnegativ. Lediglich die Bindegewebssepten, die zwischen den Drüsenazini verlaufen färben sich ganz leicht an, womit eine Abgrenzung der Azini relativ gut möglich ist. In der arteriellen Tunica intima zeigen die Endothelzellen eine stark positive Reaktion. Auch die Bindegewebsfasern und Fibrozyten der Tunica adventitia der Arterien verhalten sich positiv (Abb. 106/107). Die Tunica media in den Gefäßen zeigt jedoch keine Reaktion mit dem Vimentin-Antikörper. Die endokrinen Inselzellen zeigen keine Reaktion, wobei die innerhalb der Inseln verlaufenden Bindegewebssepten und Kapillarendothelien insgesamt aber zu einer deutlichen Färbung der Inseln führen (Abb. 105). Auch die peripheren Nervenstränge zeigten eine starke immunpositive Reaktion.

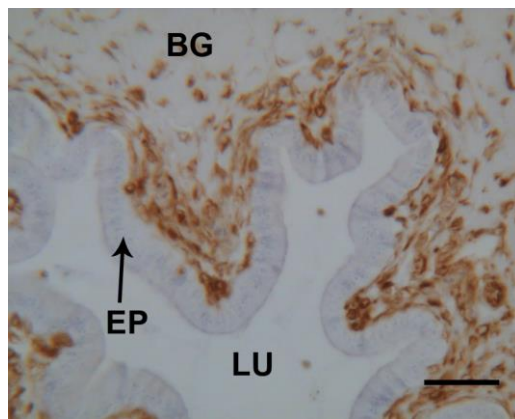


Abb. 104 Pankreas Strauß, Sekretgang, Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin

SB = 25 µm

Das Epithel (EP) des Sekretganges zeigt keine Reaktion. Das umgebende Bindegewebe (BG) reagiert dagegen stark positiv. LU = Lumen

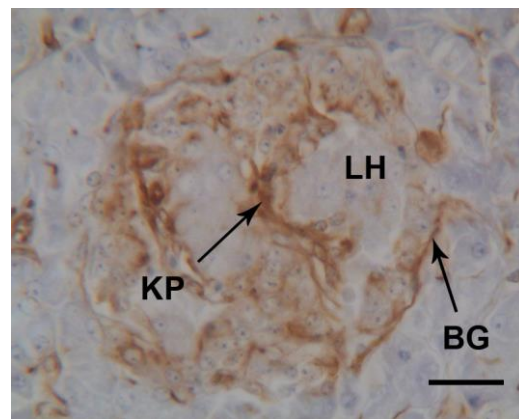


Abb. 105 Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin

SB = 20 µm

Die Bindegewebssepten (BG) und Kapillaren (KP) zeigen eine mäßige immunpositive Reaktion innerhalb der Langerhans-Insel (LH).

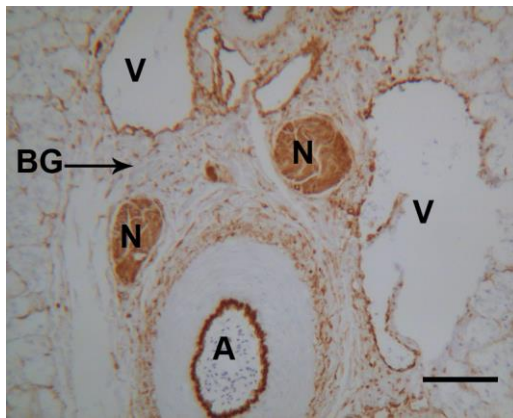


Abb. 106 Pankreas Strauß, Gefäße, Nerven, Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin

SB = 100 µm

Das Endothel der Gefäße (A, V) reagiert stark positiv mit dem Vimentin-Antikörper. Auch die peripheren Nerven (N) zeigen eine starke Reaktion. BG = Bindegewebe

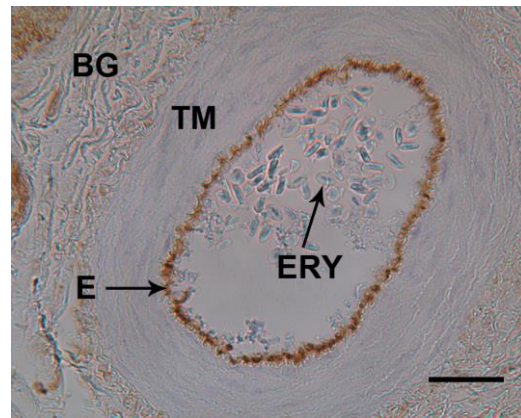


Abb. 107 Pankreas Strauß, Arterie, Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin

SB = 25 µm

Das Endothel (E) der Arterie zeigt eine starke Reaktion mit dem Vimentin-Antikörper. Die Tunica media (TM) hingegen zeigt keine Reaktion. Das umgebende Bindegewebe (BG) färbt sich nur leicht an. ERY = Erythrozyten

4.5. Immunhistochemischer Nachweis von Tubulin

Bei der immunhistochemischen Reaktion mit dem Tubulin-Antikörper zeigt sich eine deutliche Färbung im Epithel der Sekretgänge, v.a. im luminalen Bereich (Abb. 108). Des Weiteren kann Tubulin im Bereich der zirkulären Muskelschicht dieser Gänge nachgewiesen werden. Auch die glatten Muskelzellen im Bereich der Tunica media zirkulär um die Gefäße reagieren leicht positiv. Das Gefäßendothel zeigt eine ausgeprägte Reaktion mit dem Tubulin-Antikörper (Abb. 109). Das Zytoplasma der Azinuszellen ist im luminalen Bereich mittelstark gefärbt. Die peripheren Nervenfaserbündel reagieren positiv beim immunhistochemischen Nachweis von Tubulin (Abb. 111). Das Bindegewebe zeigt keine Reaktion mit dem Tubulin-Antikörper. Das endokrine Pankreasgewebe zeigt eine leichte Reaktion der endokrinen Zellen (Abb. 110).

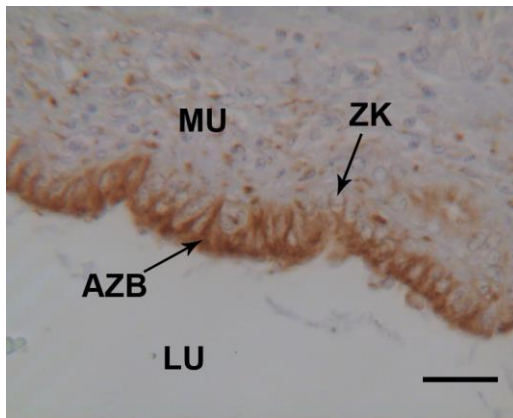


Abb. 108 Pankreas Strauß, Sekretgang, Immunhistochemischer Nachweis von Tubulin

SB = 20 µm

Der apikale Epithelbereich (AZB) der Ausführungsgänge zeigt eine stark positive Reaktion. Im Bereich der zirkulären Muskulatur (MU) zeigt sich eine schwach positive immunpositive Reaktion. LU = Lumen, ZK = Zellkern

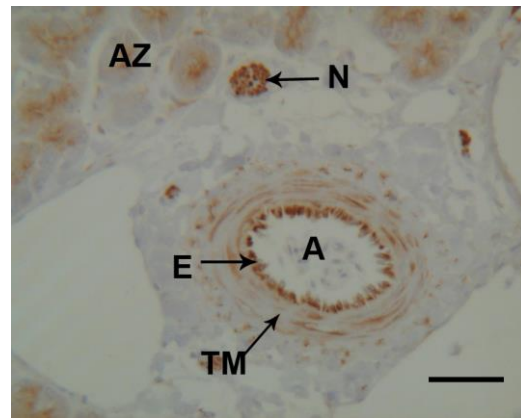


Abb. 109 Pankreas Strauß, Arterie, Nerv, Immunhistochemischer Nachweis von Tubulin

SB = 25 µm

Das Endothel (E) reagiert stark positiv, die Tunica media (TM) der Arterie (A) zeigt eine schwach positive Reaktion. AZ = Azinus, N = peripherer Nerv

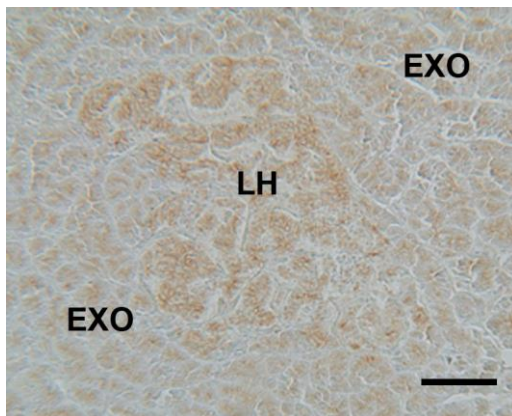


Abb. 110 Pankreas Strauß, Pankreasinsel, Immunhistochemischer Nachweis von Tubulin

SB = 100 µm

Innerhalb der Langerhans-Insel (LH) kann eine leichte Reaktion des endokrinen Gewebes mit dem Tubulin-Antikörper festgestellt werden. EXO = exokrines Pankreasgewebe

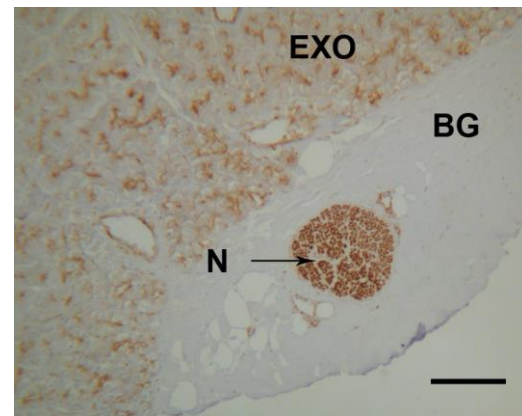


Abb. 111 Pankreas Strauß, peripherer Nerv, Immunhistochemischer Nachweis von Tubulin

SB = 100 µm

Im Querschnitt eines peripheren Nervs (N) kann Tubulin nachgewiesen werden. BG = Bindegewebe, EXO = exokrines Pankreasgewebe

4.6. Immunhistochemischer Nachweis von Insulin

Im endokrinen Gewebe kann in einem Großteil der Langerhans-Zellen Insulin nachgewiesen werden. Das Zytoplasma der B-Zellen reagiert stark positiv und sorgt für eine homogene Färbung ganzer Zellgruppen. In den kleinsten Langerhans-Inseln erfolgt eine Färbung meist aller endokrinen Zellen, bei den größeren Inseln reagiert je nach Anteil der B-Zellen nur ein Teil der Zellen positiv. Die Insulin-positiven Zellen sind meist im Inneren der Inseln zu finden. Am Rand der größeren Inseln befinden sich meist immunnegative Zellen.

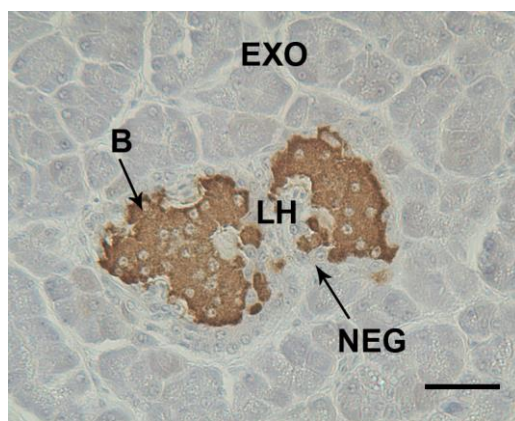


Abb. 112 Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Immunhistochemischer Nachweis von Insulin

SB = 25 µm

Das Zytoplasma der Insulin-positiven B-Zellen (B) weist eine homogen Färbung auf. Die randständigen endokrinen Zellen sind meist immunnegativ (NEG). LH = Langerhans-Insel

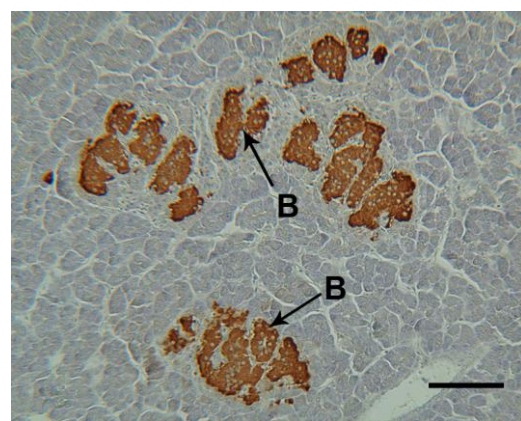


Abb. 113 Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Immunhistochemischer Nachweis von Insulin

SB = 100 µm

Die immunpositiven B-Zellen (B) formieren innerhalb der Langerhans-Inseln Zellgruppen aus.

4.7. Immunhistochemischer Nachweis von Glukagon

Die Inkubation der Gewebeschnitte mit dem Glukagon-Antikörper zeigte keine immunpositive Reaktion. Die Versuchsdurchführung mit doppelter Antikörper-Konzentration blieb bei den Proben und Positiv-Kontrollen ebenso erfolglos.

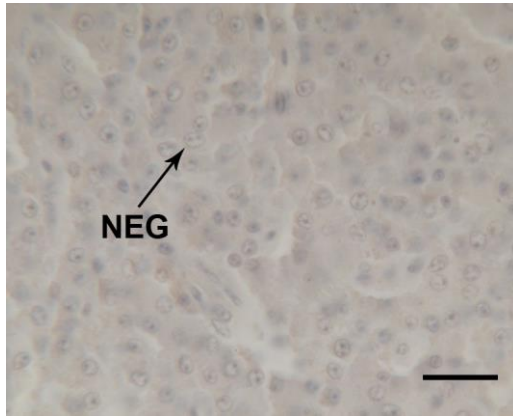


Abb. 114 Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Immunhistochemischer Nachweis von Glukagon

SB = 20 µm

Innerhalb der Langerhans-Inseln zeigt sich keine Reaktion der endokrinen Zellen (NEG) nach Inkubation mit Anti-Glukagon.

Tab. 12 Übersicht über die Bindungsstellen der verwendeten Antikörper

Gewebe(-struktur)		α -SMA	Myo	Vim	CK	Tub	Ins	Glu
Azinuszelle	Zellkern	–	–	–	–	–	–	–
	Zytoplasma	–	–	–	–	++	–	–
	Lumen	–	+	–	+	–	–	–
	Epithel	–	–	–	–	–	–	–
Sekretgang	Epithel	–	+	–	+	++	–	–
	Muskulatur	++	–	+	–	+	–	–
	Bindegewebe	–	–	+	–	–	–	–
Exokrines Drüsensekret		–	–	–	–	–	–	–
Langerhans-Inseln		–	+	–	–	+	++	–
Gefäße	Endothel	–	–	+	–	++	–	–
	Muskulatur	++	–	–	–	+	–	–
Basalmembran		–	–	–	–	–	–	–
Bindegewebe		–	–	++	–	–	–	–
Muskulatur		++	–	–	–	+	–	–
Erythrozyten		–	–	–	–	–	–	–
Nervenzellen		–	–	++	–	++	–	–

(– = keine Reaktion, + = schwache bis mäßige Reaktion, ++ = starke Reaktion)

α -SMA = „ α -smooth-muscle-actin“, Myo = Myosin, Vim = Vimentin, CK = Cytokeratine, Tub = Tubulin, Ins = Insulin, Glu = Glukagon

5. Elektronenmikroskopische Untersuchungen

5.1. Ultrastruktur des exokrinen Pankreas im Transmissionselektronenmikroskop (TEM)

Die exokrinen Zellen des Pankreas sitzen einer gut ausgeprägten Basalmembran auf. Zwischen den einzelnen Zellen ist zum Teil ein mehr oder weniger ausgeprägter Interzellularspalt ausgebildet. Bei den Azinuszellen können zwei Zonen unterschieden werden, eine Basalzone und eine Apikalzone (Abb. 118). Im Basalbereich befinden sich der runde Zellkern und viele Organellen. Die Kontur der Kernmembran ist glatt und besitzt eine Vielzahl kleiner Poren. Das Kernchromatin erscheint aufgelockert und enthält stellenweise dichte Heterochromatin-Aggregate am Rand und auch im Inneren des Zellkerns. Charakteristisch für die Basalregion ist der Golgi-Apparat und das mit vielen Ribosomen besetzte raue Endoplasmatische Retikulum (RER). Letzteres entspricht einem ausgedehnten Hohlraumsystem, das viele parallel verlaufende Zisternen besitzt und außen mit Ribosomen besetzt ist. Zwischen den Zisternen im intermembranösen Spaltraum befinden sich viele Mitochondrien vom Cristae-Typ mit zahlreichen Einstülpungen an der inneren Membran (Abb. 119). Des Weiteren lassen sich nicht nur membrangebundene, sondern auch zahlreiche freie Ribosomen im Zytoplasma der Azinuszellen lokalisieren. Im supranukleären Bereich kommen viele runde Sekretgranula und Vesikel unterschiedlicher Größe vor. Sie besitzen vakuolenartiges Aussehen mit dichtem homogenen, teils fein granulärem, elektronendichten Inhalt. Die unreifen Vesikel besitzen eine aufgelockerte Innenstruktur, die reifen Stadien sind von einer Membran umgeben und kommen gehäuft am apikalen Zellpol vor. Die schmalen apikalen Zellpole eines Drüsenazinus begrenzen das Azinusbinnenlumen. Innerhalb der Azinusbinnenlumina sind ebenfalls Zymogenvesikel angesiedelt, die von der apikalen Zellmembran abgeschnürt werden. Diese besitzen Durchmesser bis 1000 nm.

Viele Drüsenazini besitzen Zentroazinare Zellen (Abb. 117). Diese ragen in das Lumen der Azini hinein und sind als Übergangszellen in das Ausführungsgangsystem zu betrachten. Ihre Zellkerne sind meist flacher als die der Azinuszellen.

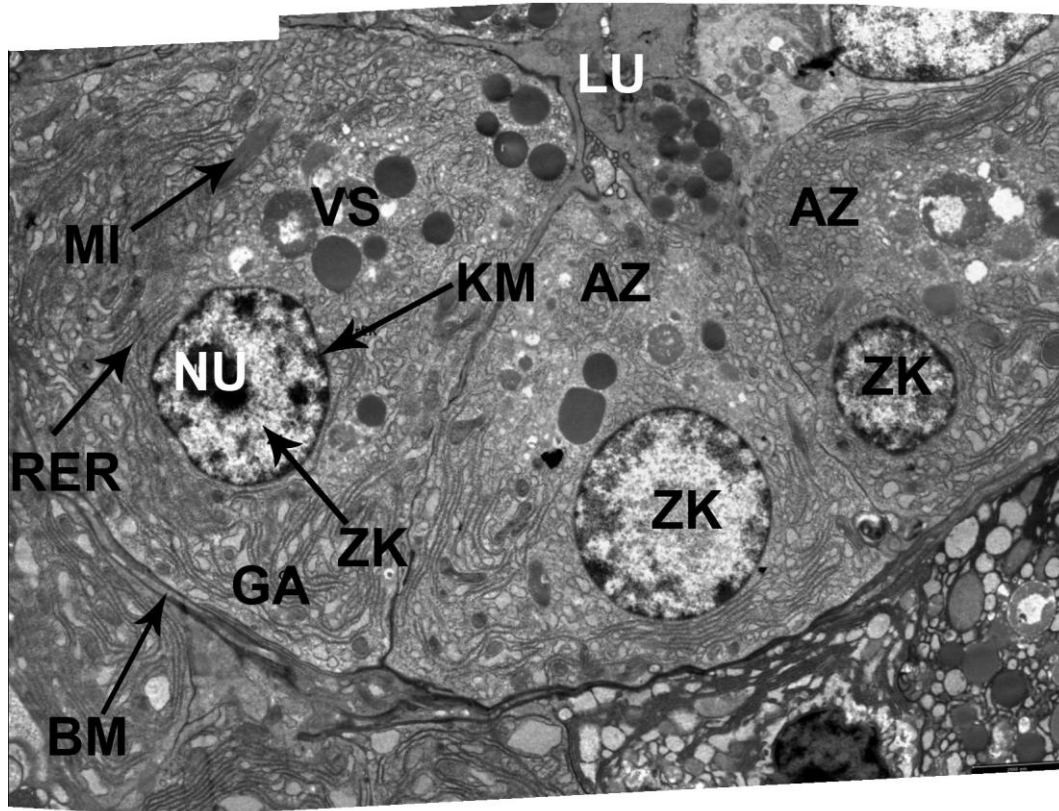


Abb. 115 Pankreas Strauß, Azinuszellen um zentrales Lumen angeordnet, TEM

SB = 2500 nm

Die Azinuszellen (AZ) sind um ein Lumen (LU) herum angeordnet, in das die Zymogenvesikel (VS) abgegeben werden. In der apikalen Zone befinden sich unreife Vesikel mit lockerer Struktur und reife Vesikel mit einer feinen Membran. Die Zellorganellen (Golgi-Apparat GA, Mitochondrien MI, raues endoplasmatisches Retikulum RER) befinden sich im basalen Bereich der Azinuszellen. Die Azinuszellen besitzen eine zarte Basalmembran (BM) und zwischen den Zellen einen mehr oder weniger ausgeprägten Interzellularspalt. KM = Kernmembran, ZK = Zellkern, NU = Nucleolus

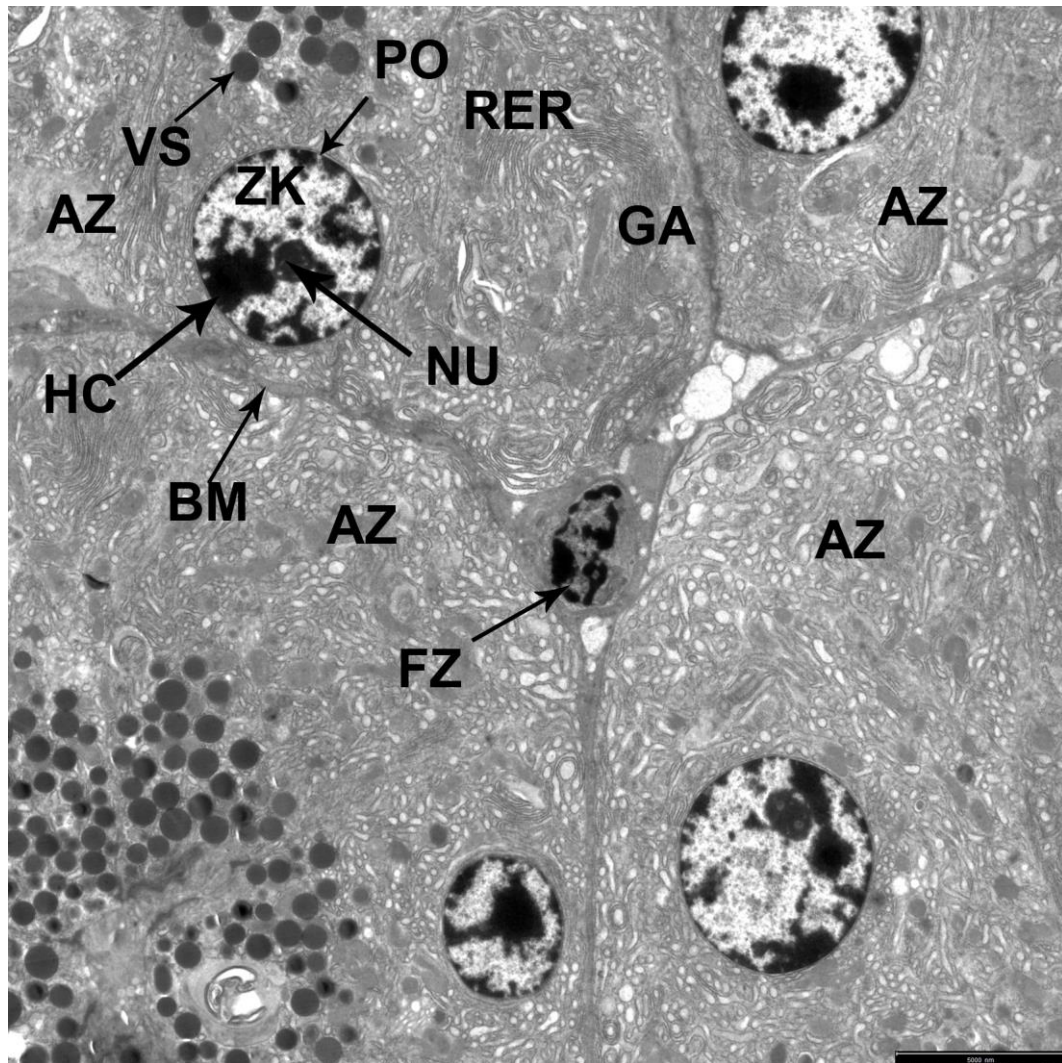


Abb. 116 Pankreas Strauß, exokrine Azinuszellen, TEM

SB = 5000 nm

Der basale Zellkern der Azinuszellen (AZ) besitzt zahlreiche Membranporen (PO) und Heterochromatin (HC). Supranukleär schnüren sich vom Golgi-Apparat (GA) Zymogenvesikel (VS) ab, die durch Exozytose in das Azinusbinnen freigegeben werden. In der Basalzone befinden sich das raue endoplasmatische Retikulum (RER) und viele freie Ribosomen. Die Mitochondrien sind vom Cristae-Typ. Im Gewebe zwischen den Azinuszellen befinden sich Fibrozyten (FZ) und Gefäße. ZK = Zellkern, NU = Nucleolus, BM = Basalmembran

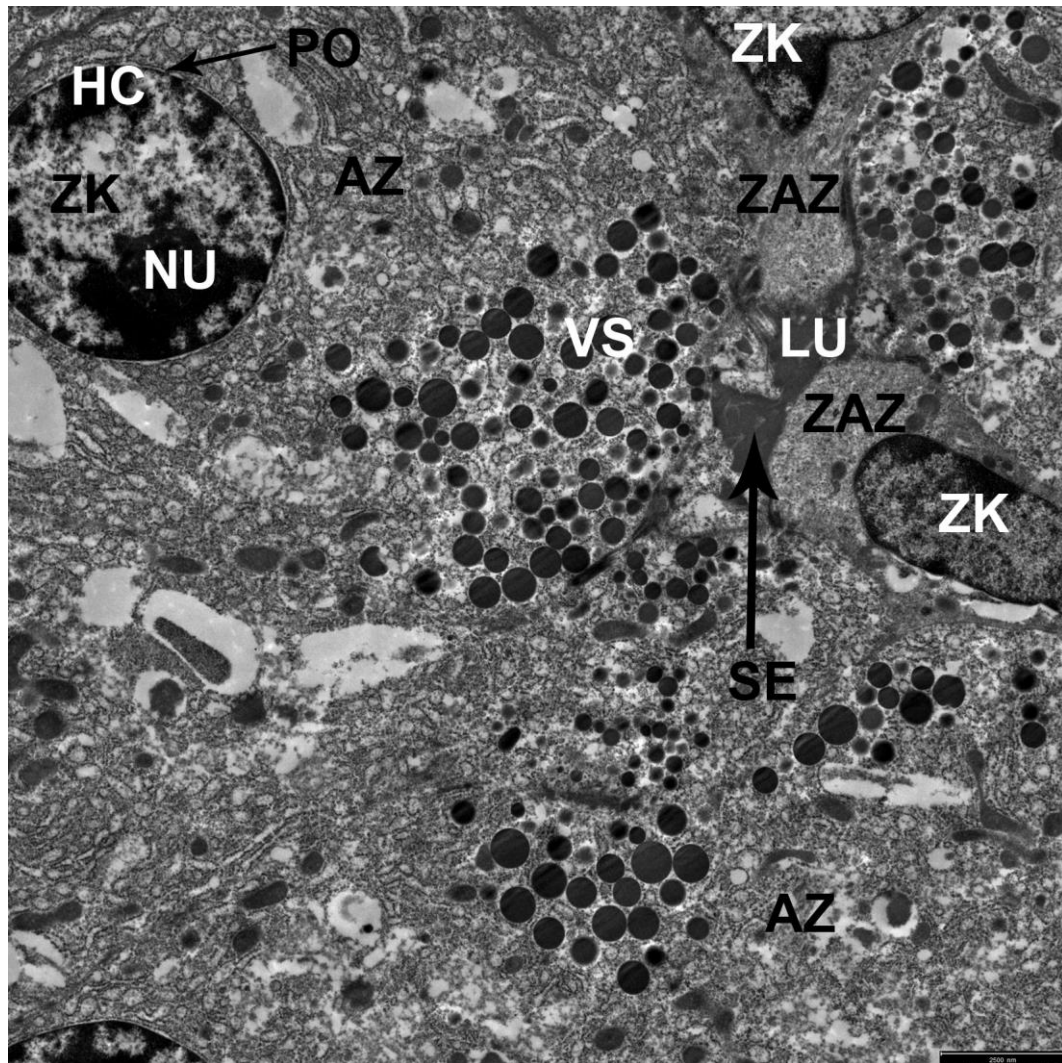


Abb. 117 Pankreas Strauß, exokrines Gewebe, Zentroazinäre Zellen, TEM

SB = 2500 nm

In der apikalen Zone der Azinuszellen (AZ) befinden sich zahlreiche Zymogenvesikel (VS), die eine Membran besitzen und einen Durchmesser bis 1000 μm aufweisen. Die Zentroazinäre Zellen (ZAZ) ragen in das Lumen (LU) der Azini hinein und besitzen meist flache Zellkerne (ZK). PO = Kernpore, HC = Heterochromatin, NU = Nucleolus, SE = Sekret

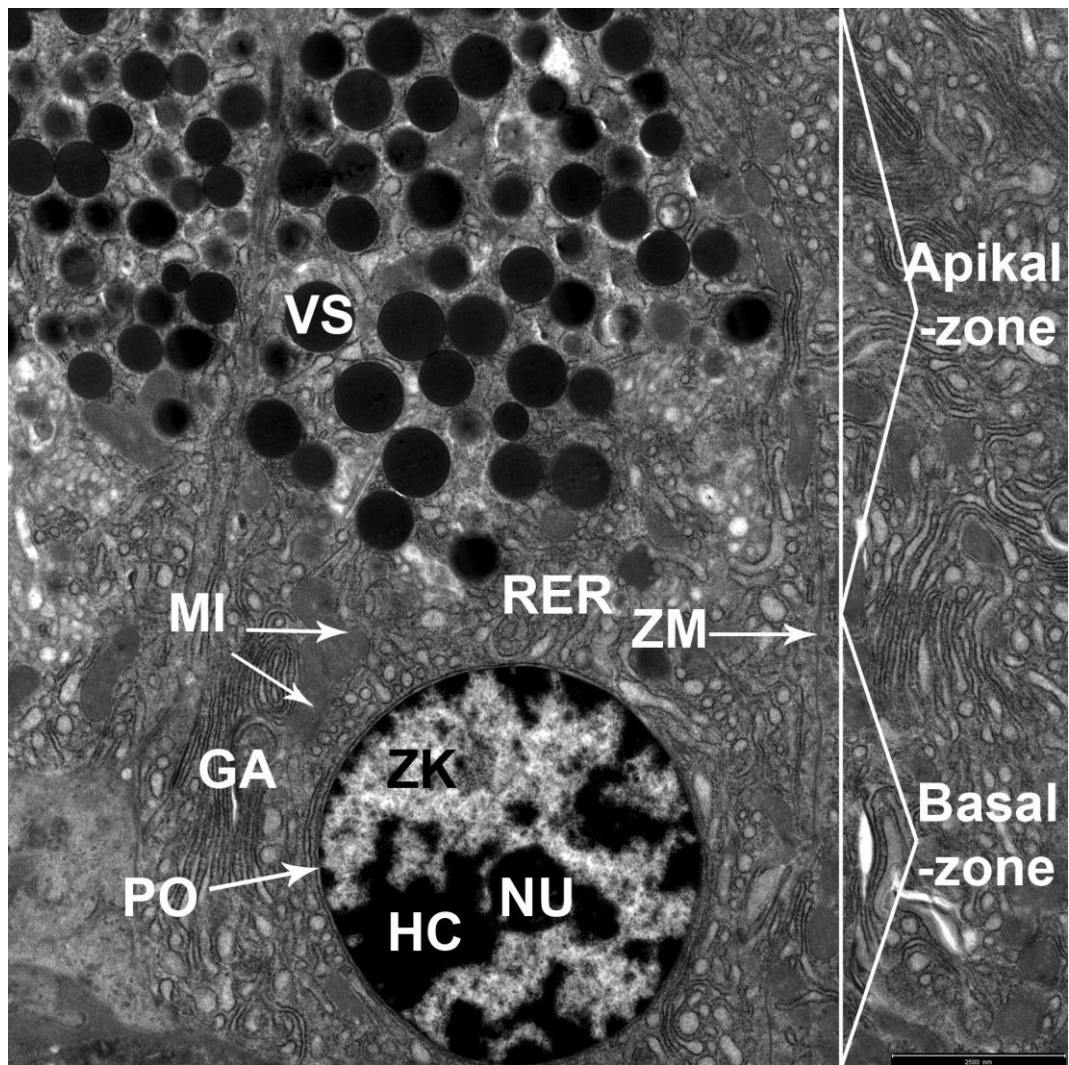


Abb. 118 Pankreas Strauß, exokrine Azinuszelle, TEM

SB = 2500 nm

Die Basalzone der Azinuszellen enthält den Zellkern (ZK) und die Zellorganellen (Golgi-Apparat GA, Mitochondrien Mi, raues endoplasmatisches Retikulum RER). Der heterochromatinreiche (HC) Kern besitzt hier einen Nucleolus (NU) und zahlreiche Kernporen (PO). Im Zytoplasma kommen viele freie Ribosomen vor. Die Apikalzone ist geprägt von mehr oder weniger reifen Sekretvesikeln (VS). ZM = Zellmembran

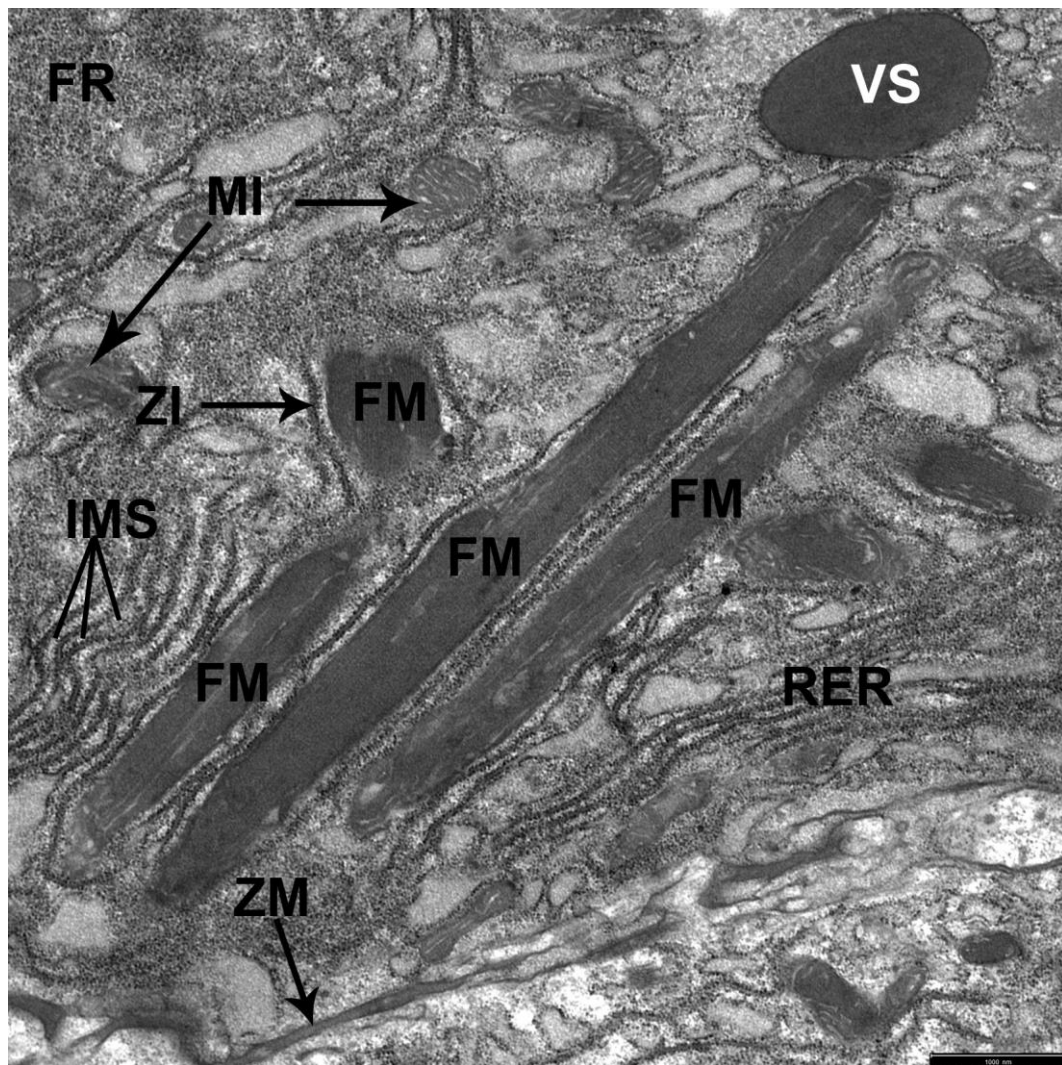


Abb. 119 Pankreas Strauß, Zellorganellen exokrines Pankreas, Heranreifung der Zymogenvesikel, Stadium der vermehrten Vesikelsynthese

SB = 1000 nm

In der Basalzone der exokrinen Pankreaszellen befindet sich ein ausgedehntes raues endoplasmatisches Retikulum (RER). Manche Zisternen des RER erscheinen stark ausgeweitet und enthalten in großer Menge filamentöses Material (FM). Im Zytoplasma der Zellen liegen zahlreiche Mitochondrien (MI) vom Cristae-Typ mit zahlreichen Einstülpungen an der inneren Membran. Des Weiteren lassen sich nicht nur membrangebundene, sondern auch zahlreiche freie Ribosomen (FR) mit hoher Elektronendichte im Zytoplasma der Azinuszellen lokalisieren. VS = Vesikel, ZM = Zellmembran, ZI = Zisterne, IMS = Intermembranöser Spaltraum

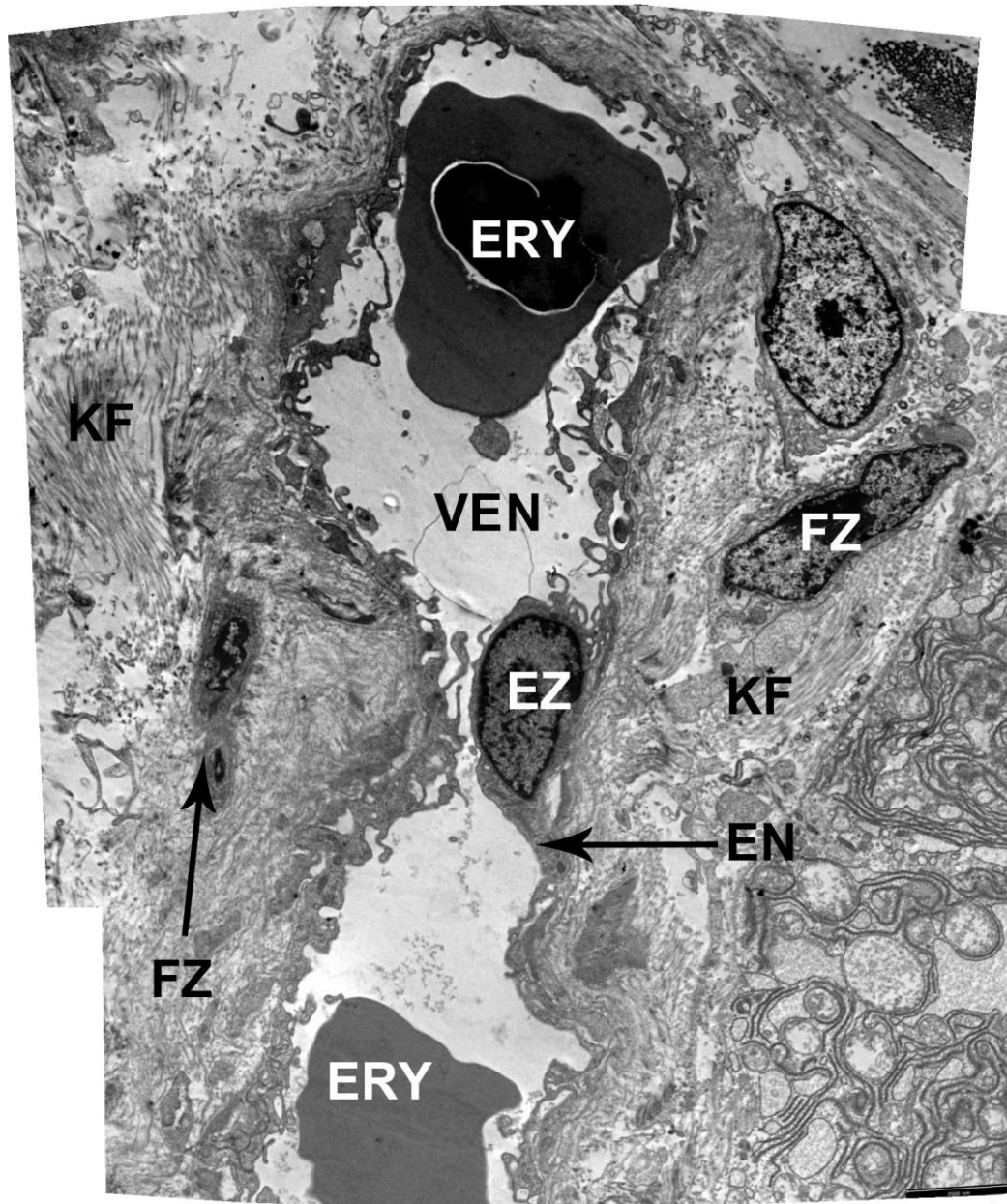


Abb. 120 Pankreas Strauß, Venole, TEM

SB = 2500 nm

Der Querschnitt einer Venole (VEN) zeigt ein dünnes Endothel (EN) mit einem Anschnitt einer Endothelzelle (EZ). Innerhalb des Gefäßes befinden sich Erythrozyten (ERY). Um das Gefäß befindet sich Bindegewebe. Dies beinhaltet zahlreiche Fibrozyten (FZ) und kollagene Fibrillen (KF).

5.2. Ultrastruktur des endokrinen Pankreas

Innerhalb der endokrinen Pankreasinseln des Straußes sind im Rahmen der elektronenmikroskopischen Untersuchungen in allen Lappen vier deutlich unterscheidbare Zelltypen zu differenzieren. Sämtliche hormonproduzierende Zellen grenzen an Kapillaren.

Die erste Zellart (A-Zellen) ist meist in der Peripherie der Pankreasinseln lokalisiert und besitzt eine hochprismatische Form (Abb. 122). Die A-Zellen besitzen einen runden bis ovalen Zellkern mit relativ hohem Heterochromatingehalt und einem oder mehreren Nucleoli. Der Anteil an rauem endoplasmatischem Retikulum ist gering, der Golgi-Apparat ist relativ spärlich ausgebildet. Wenige freie Ribosomen kommen ebenfalls vor. Die Mitochondrien sind klein und in geringer Anzahl vorhanden. Die runden bis ovalen Granula der A-Zellen sind ca. 400-500 nm groß und besitzen eine inhomogene dunkle Struktur. Die meisten Granula besitzen einen dunklen, elektronendichten Zentralanteil und einen sehr kleinen hellen Hof. Sie sind membranbegrenzt und oft am vaskulären Pol lokalisiert.

Die zweite Zellart (B-Zellen) ist in allen Pankreasschenkeln anzutreffen und meist innerhalb der endokrinen Inseln lokalisiert. Die B-Zellen bilden den Hauptteil der Inselzellen und sind größer als die A-Zellen. Sie besitzen einen runden bis ovalen Zellkern mit locker strukturiertem Chromatin (Abb. 124). Die Kerne der B-Zellen besitzen einen unterschiedlichen Anteil an Heterochromatin und einen oder mehrere Nucleoli. Im Vergleich zu den A-Zellen ist das Zytoplasma der B-Zellen reich an Zellorganellen wie raues endoplasmatisches Retikulum, freie Ribosomen und Mitochondrien. Zum Teil sind mehrere Golgi-Areale ausgebildet. Die bis zu 600 nm großen B-Zell-Granula zeigen sich in runder bis ovaler Form. Sie besitzen einen dichten kristalloiden Inhalt und einen charakteristischen hellen Hof.

Die dritte Zellart (D-Zellen) ist nur spärlich vorhanden. Die D-Zellen besitzen eine heterogene Erscheinung, oft besitzen sie eine spindelartige Form. Sie befinden sich in direkter Nähe zu den Kapillaren, wobei sie entweder isoliert oder in kleinen Zellgruppen erscheinen. Innerhalb der Zelle erfolgt eine Zentralisierung der Organellen. Die Hormongranula lokalisieren sich charakteristischerweise am vaskulären Pol, während sich die übrigen Zellorganellen am gegenüberliegenden Zellpol konzentrieren. Die ca. 300-500 nm großen Granula sind etwas kleiner und

weniger elektronendicht als die der A- und B-Zellen. Der Golgi-Apparat ist klein und nur wenige Mitochondrien und freie Ribosomen sind im Zytoplasma dieser Zellen enthalten.

Die vierte Zellart (APP-Zellen) ist nur in ganz geringer Anzahl vorhanden. Sie siedeln sich meist isoliert zwischen den exokrinen Azinuszellen an (Abb. 125) oder kommen verstreut innerhalb der Langerhans-Inseln zu liegen. Sie besitzen eine polygonale Form mit feinen Zellfortsätzen, mit denen sie die nahe gelegenen Kapillaren erreichen können. Ihre ca. 300-400 nm großen Granula sind rund mit homogener, mäßiger Elektronendichte.

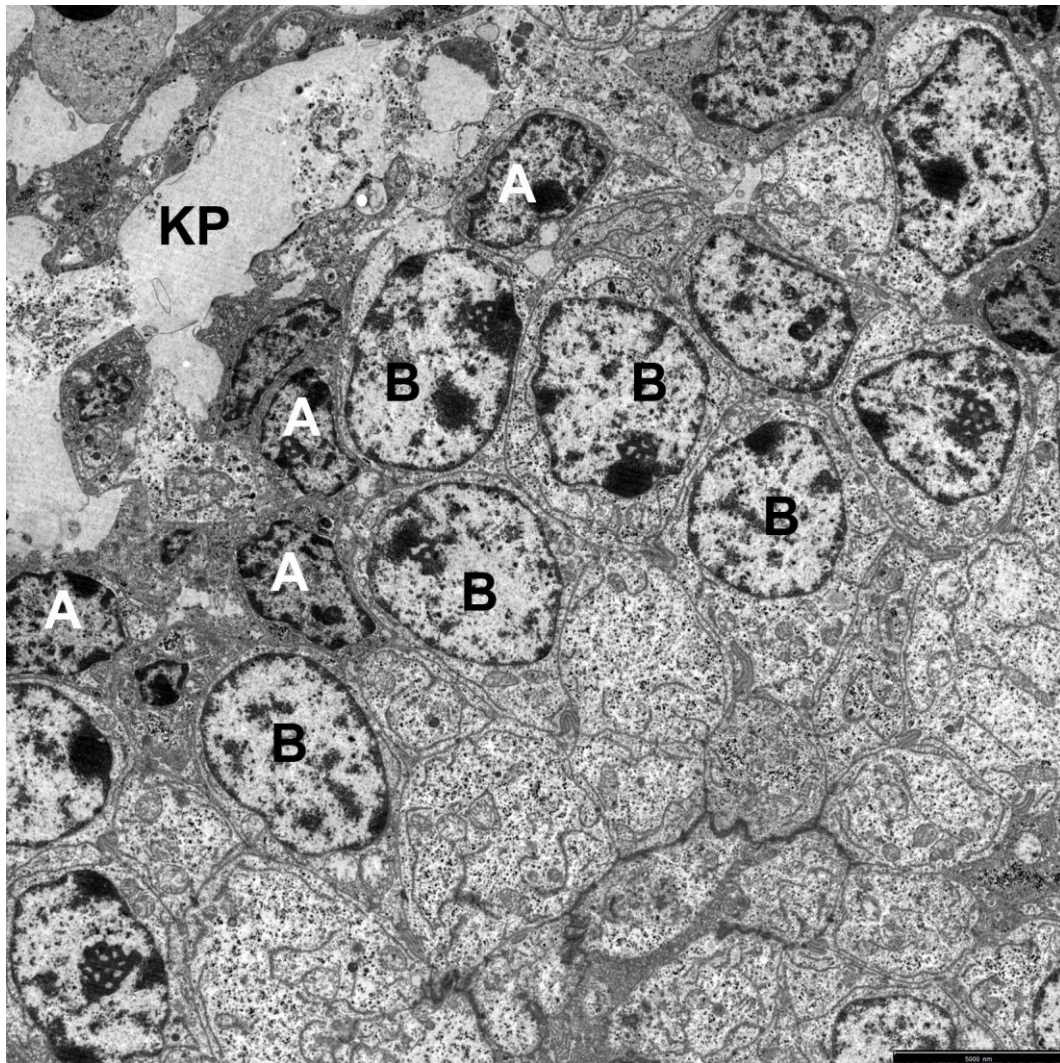


Abb. 121 Pankreas Strauß, Übersicht über A- und B-Zellen, TEM

SB = 5000 nm

Die A-Zellen (A) liegen randständig in direkter Nähe zu den Kapillaren (KP). Ihr Zellkern ist heterochromatinreich und rund-oval. Im Zytoplasma befinden sich wenige Zellorganellen. Die B-Zellen (B) liegen eher zentral innerhalb der Pankreasinsel und verfügen über einen großen runden Zellkern.

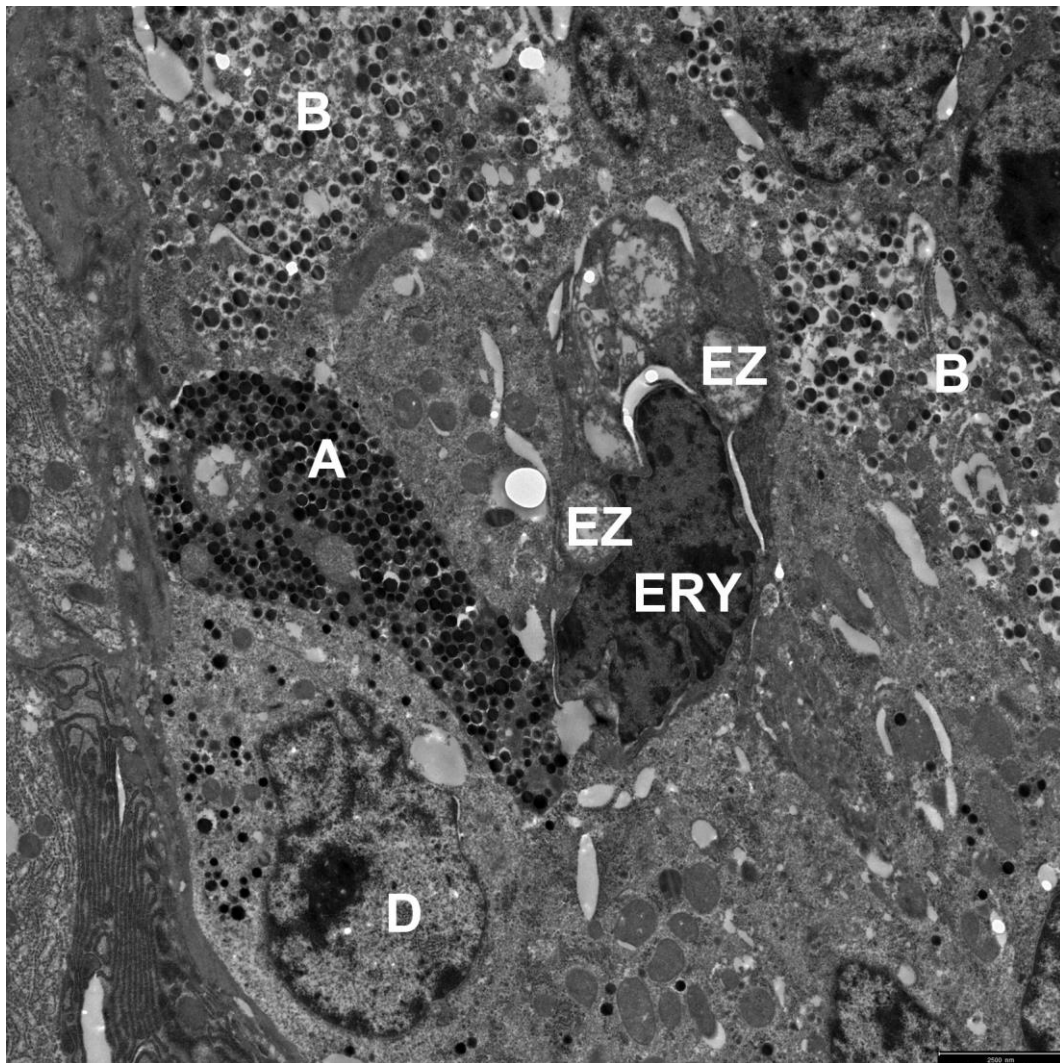


Abb. 122 Pankreas Strauß, A-, B- und D-Zellen um eine Kapillare angeordnet, TEM

SB = 2500 nm

Die endokrinen Zellen sind um eine Kapillare herum angeordnet, welche einen Erythrozyt (ERY) beinhaltet. Die B-Zellen besitzen einen charakteristischen hellen Hof um die Granula. Die A-Zelle enthält runde inhomogen erscheinende Granula mit teilweise einem sehr zarten hellen Hof. Die D-Zelle enthält wenige Granula, die Zellorganellen sind an der gegenüberliegenden Zellseite lokalisiert. EZ = Endothelzelle

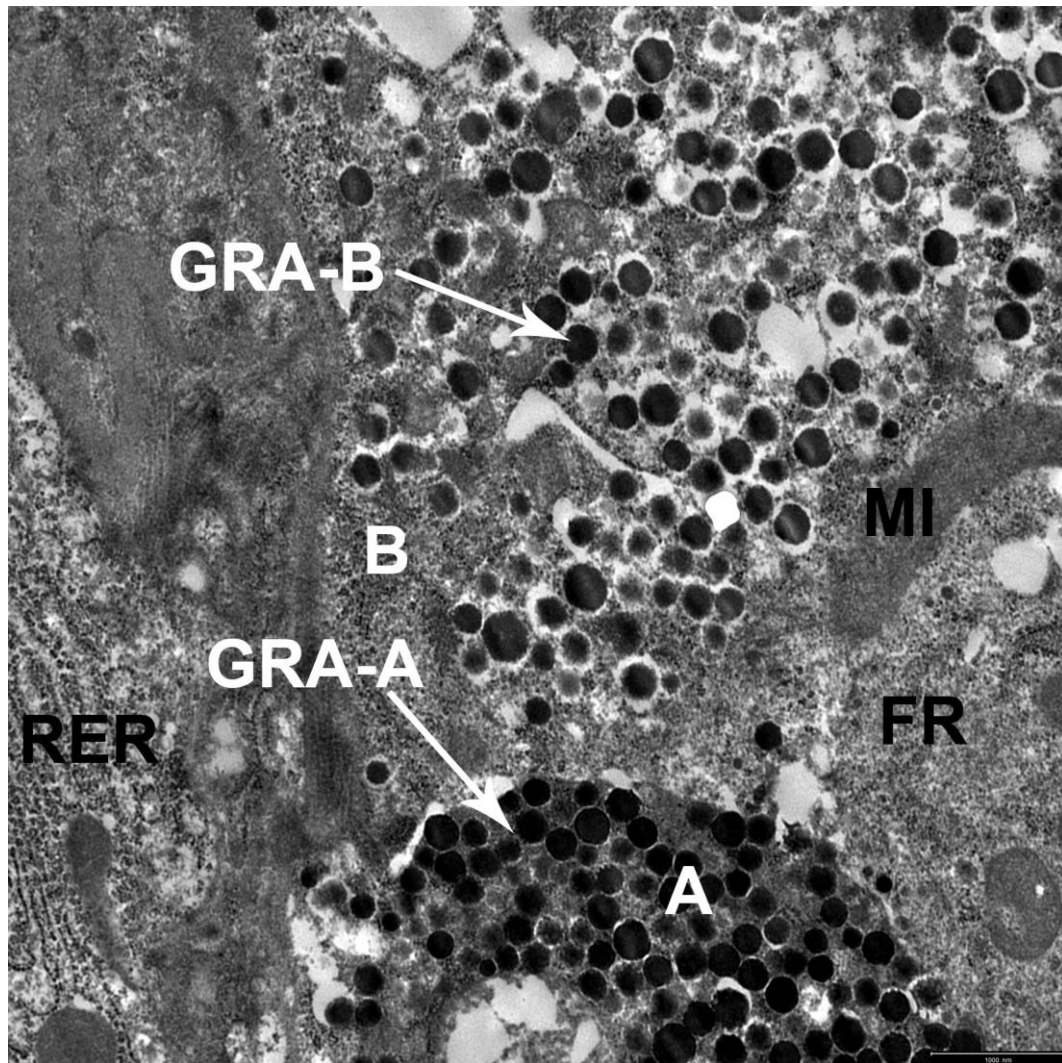


Abb. 123 Pankreas Strauß, A- und B-Zelle mit typischen Granula, TEM

SB = 1000 nm

Die B-Zellen (B) der Pankreasinsel enthalten zahlreiche inhomogene Granula (GRA-B) mit kristalloidem Inhalt. Sie besitzen einen typischen hellen Hof. Die Granula (GRA-A) der A-Zellen (A) sind von einer zarten Membran umgeben und besitzen z.T. einen sehr feinen hellen Hof. RER = raues endoplasmatisches Retikulum, FR = freie Ribosomen, MI = Mitochondrium

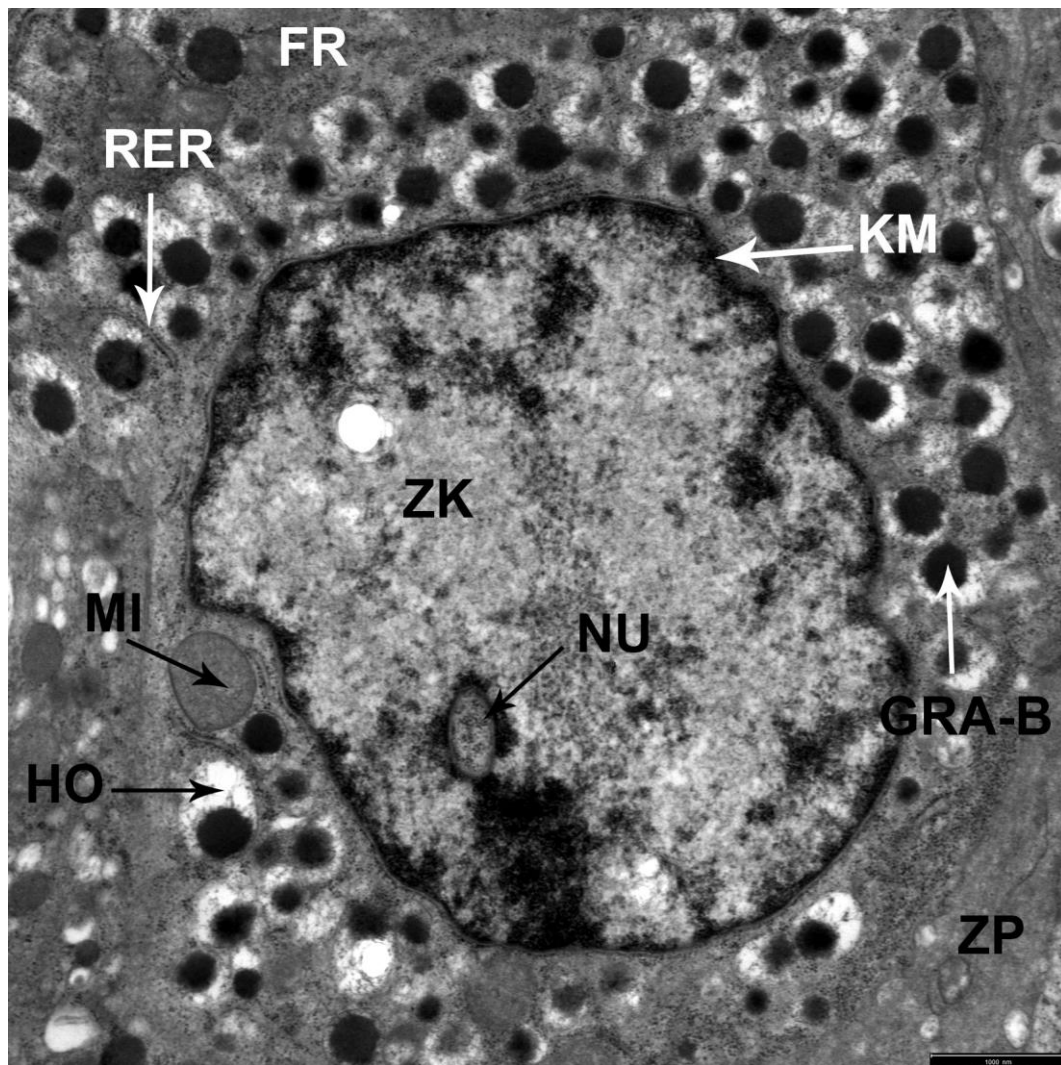


Abb. 124 Pankreas Strauß, B-Zelle, TEM

SB = 1000 nm

Der annähernd runde Zellkern (ZK) der B-Zelle besitzt einen Nucleolus (NU) und ist heterochromatinarm. Die Kernmembran (KM) liegt geschlossen um den Zellkern. Die Granula (GRA-B) besitzen peripher einen hellen Hof (HO). Die Struktur der Granula ist inhomogen kristalloid. Im Zytoplasma (ZP) befindet sich ein hoher Anteil an freien Ribosomen (FR) und Mitochondrien (MI). RER = raues endoplasmatisches Retikulum

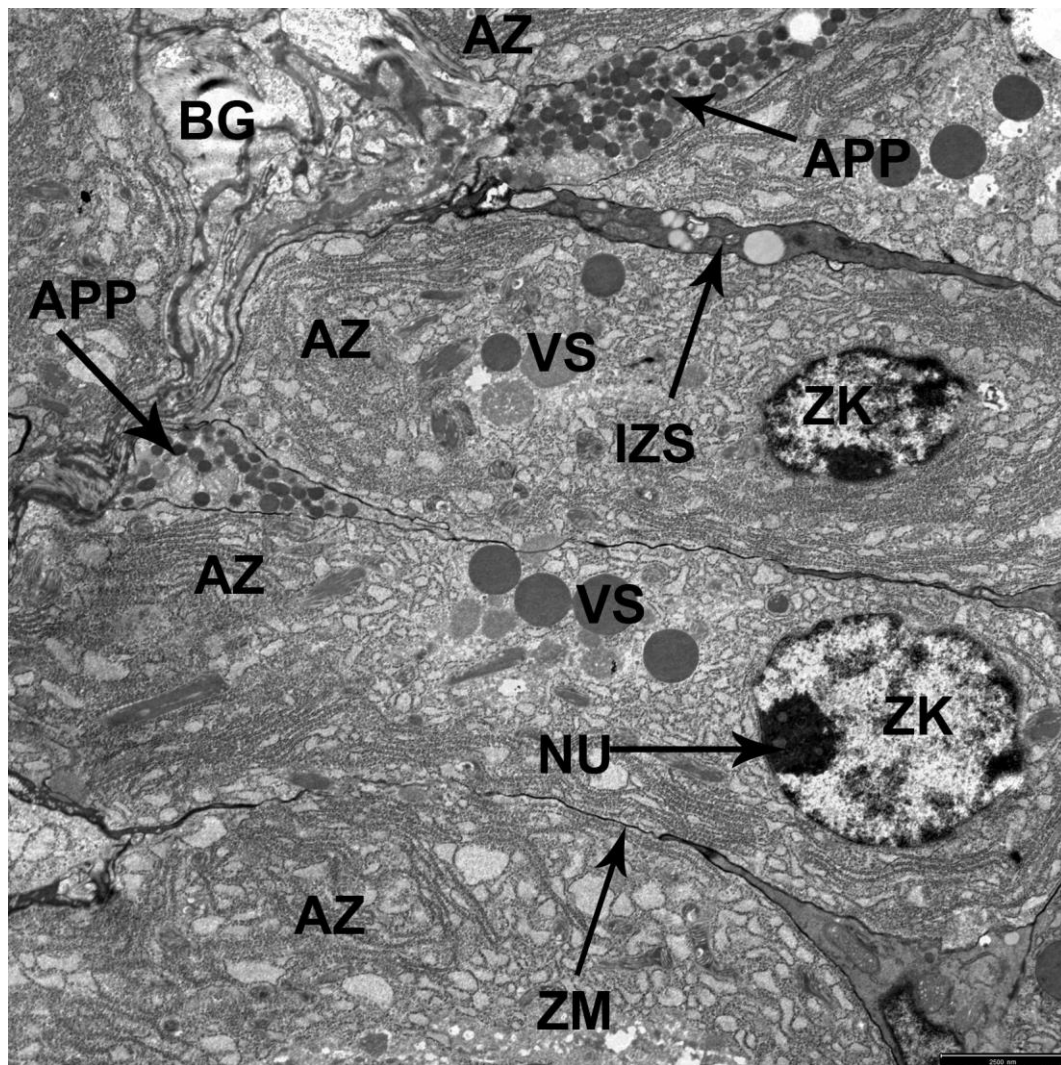


Abb. 125 Pankreas Strauß, Azinuszellen, APP-Zellen, TEM

SB = 2500 nm

Zwischen den Azinuszellen (AZ) befinden sich zwei APP-Zellen (APP). Charakteristischerweise besitzen sie Fortsätze, die sich zwischen den Azinuszellen (AZ) erstrecken. ZK = Zellkern, VS = Vesikel, IZS = Interzellulärer Spaltraum, NU = Nucleolus, ZM = Zellmembran, BG = Bindegewebe

V. DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit wurde das Pankreas des Straußes (*Struthio camelus*) licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Dafür wurden konventionelle Färbemethoden, Lektin- und Immunhistochemie sowie Transmissionselektronenmikroskopie angewandt. In der Studie wurde zwischen dem exokrinen und dem endokrinen Pankreasanteil unterschieden. Die Präparate der verwendeten histologischen Schnitte entstammten dem Afrikanischen Strauß (*Struthio camelus*). Die untersuchten zehn Tiere waren bei der Schlachtung in etwa 14-18 Monate alt. Der Aufbau der Bauchspeicheldrüse des Straußes entspricht grundsätzlich dem von anderen Vogelarten.

Die Bauchspeicheldrüse des Straußes ist eine gegliederte, langgestreckte Drüse, die in einer Serosadoppellamelle zwischen dem absteigenden und aufsteigenden Schenkel des Duodenums lokalisiert ist. Sie liegt wie bei allen Vögeln in der rechten Abdominalhöhle (Nickel et al. 2004). Sie erstreckt sich vom Muskelmagen bis annähernd zum Ende der Duodenalschleife. Diese makroskopischen Beobachtung deckt sich mit den Untersuchungen am Pankreas des Straußes von Cooper und Mahroze (2004) und auch beim Falken (Simsek et al. 2009). In der durchgeführten Studie konnten in jedem der Tiere drei Organschenkel makroskopisch differenziert werden: der Duodenalschenkel, der Ventralschenkel und der Splenalschenkel (Milzschenkel), wobei letzterer meist dem Dorsalschenkel angegliedert war. Diese Feststellung entspricht den Untersuchungen von McClish und Eglitis 1969 bei der Ente, von Scheuerer (1988) bei der Japanischen Wachtel und von Al-Agele und Mohammed (2012) beim Goldadler. Laut Stornelli et al. (2006) konnte der Milzschenkel beim Strauß jedoch nur mikroskopisch dargestellt werden, makroskopisch war er nicht von dem anliegenden Schenkel abzugrenzen. Beim Hirtenstar (*Mynah/Acridothores tristis*) konnten in einer Studie von Saadatfar und Asadian (2009) die Splenalschenkel weder makroskopisch noch mikroskopisch identifiziert werden. Bei der Wachtel konnte ein sog. Drittlappen identifiziert werden, der zwischen dem Dorsal- und Ventralschenkel liegt (Smith 1974), ebenso beim Huhn (Mikami und Ono 1962; Ruffier et al. 1998), beim Hirtenstar (Saadatfar und Asadian 2009) und bei anderen galliformen Vogelarten (Guha und Ghosh 1978). Bei der Ente wurden wiederum nur drei Pankreasschenkel dargestellt (Lucini et al. 1996).

Nach Bezuidenhout (1986) beträgt die durchschnittliche Länge der gesamten Drüse 20 cm. In der vorliegenden Studie wurden die einzelnen Schenkel separat vermessen. Dabei betrug die mittlere Länge der Dorsalschenkel 37,6 cm ($\pm 6,1$), die durchschnittliche Länge der Ventralschenkel 18,9 cm ($\pm 3,7$) und die Splenalschenkel waren im Mittel 8,0 cm ($\pm 2,0$) lang. Die Dorsalschenkel waren in der Regel länger als die Ventralschenkel. Diese Beobachtungen entsprechen nicht den Untersuchungen zum Pankreas der Japanischen Wachtel (Scheuerer 1988). Hier war der Ventralschenkel größer als der Dorsalschenkel.

Das Pankreas weist beim Strauß einen Ductus pancreaticus auf, der in die Papilla duodenalis des Dünndarms mündet. Diese Beobachtung stimmt mit der Aussage von Stornelli et al. (2006) und Deeming (1999) überein. Laut Stornelli et al. (2006) wurden beim Strauß in seltenen Fällen auch zwei separat verlaufende Hauptausführungsgänge beschrieben. Bei der Gans wurden ebenfalls zwei Hauptausführungsgänge beobachtet (Gülmez 2003). Liu et al. (1998) berichten bei der Ente von zwei bis vier Hauptausführungsgängen. Nickel et al. (2004) beschreiben beim Hausgeflügel drei Ausführungsgänge, welche nicht miteinander kommunizieren: den Ductus pancreaticus dorsalis, den Ductus pancreaticus ventralis und den Ductus pancreaticus accessorius. Auch beim Falken (Simsek et al. 2009) werden drei Hauptausführungsgänge beschrieben: zwei dorsale und ein ventraler Ductus pancreaticus. Ansonsten entspricht der übrige makroskopische Aufbau und die Blutversorgung der Bauchspeicheldrüse des Straußes den Beobachtungen von Nickel et al. (2004).

Das exokrine Pankreas des Straußes stellt wie bei den anderen Vogelarten den Hauptteil des Gesamtgewebes dar. Die Bauchspeicheldrüse ist eine tubuloazinäre Drüse mit deutlicher Läppchenstruktur. Das Organ wird von einer bindegewebigen Kapsel mittlerer Dicke umhüllt, welche Septen ins Innere dieses Organs entsendet und die traubenförmig angeordneten Azini umgibt. Bei der Taube konnte nur eine sehr dünne Kapsel festgestellt werden (Mobini 2013). Der Truthahn besitzt im Gegensatz dazu eine sehr dicke Bindegewebskapsel (Mobini und Aghaabedi 2009). Die serösen Azini sind Drüsenendstücke mit einem Lumen, in welchem das Verdauungssekret sezerniert wird. Diese Tatsachen entsprechen den Beobachtungen von Das et al. (2003) bei der Ente, Simsek et al. (2009) beim Falken und Gülmez (2003) bei der Gans. Die Läppchen enthalten Schaltstücke und viele Zentroazinäre Zellen, welche wie auch bei der Gans (Mobini 2011)

keine Zymogengranula besitzen. Diese Feststellung machten auch Sinowatz und Hees (2012) und Williams und Kendall (1981) beim Star. Beim Hirtenstar (*Mynah/Acridotheres tristis*) konnten in einer Studie von Saadatfar und Asadian (2009) keine Zentroazinäre Zellen aufgefunden werden.

Die hochprismatischen Zellen der Azini beinhalten einen basal liegenden Zellkern mit einem oder mehreren Nucleoli. Diese Beobachtung machten auch Stornelli et al. (2006) beim Strauß. Innerhalb der Azinuszellen lässt sich eine basale basophile Zone von einer apikalen azidophilen Zone unterscheiden. In diesem dem Lumen zugewandten Bereich befinden sich zahlreiche Sekretbläschen (Zymogengranula/-vesikel). Diese Feststellungen konnten unter anderem auch bei der Gans (Mobini 2011) und bei der Taube (Mobini 2013) gemacht werden. Die verschiedenen Zonen in den exkretorisch wirksamen Azinuszellen spiegeln die unterschiedlichen Produktionsstufen der Verdauungsenzyme und die hohe Syntheseleistung der exokrinen Zellen wieder. Das im apikalen Zellbereich lokalisierte Sekret konnte außer beim Strauß (Stornelli et al. 2006) auch bei der Ente (Mobini und Aghaabedi 2009) und bei der Gans (Gülmez 2003) festgestellt werden. Beim Strauß war gut zu erkennen, dass die Ductus intralobulares ein einschichtiges isoprismatisches Epithel mit dünner Bindegewebsschicht und die Ductus interlobulares ein hochprismatisches Epithel und eine dickere Bindegewebsschicht besitzen. Dies wird auch in einer Studie über Tauben erörtert (Mobini 2013). Beim Strauß umgibt noch eine dünne Schicht glatter Muskulatur die letztgenannten Ductus interlobulares. Diese Feststellung und die Tatsache, dass das hochprismatische Epithel der großen Ausführungsgänge zirkulär eine mehrschichtige glatte Muskulatur besitzt, wurde auch von Gülmez (2003) bei der Gans, von Saadatfar und Asadian (2009) beim Hirtenstar (*Mynah/Acridotheres tristis*) und von Al-Agele und Mohammed (2012) beim Goldadler beobachtet. Zwischen den Epithelzellen in den Drüsenausführungsgängen konnten, wie auch Das et al. (2003) bei der Ente und Nickel et al. (2004) beschreiben vereinzelt Becherzellen vorgefunden werden. Bei der Taube konnte diese Beobachtung nicht gemacht werden (Mobini 2003).

Innerhalb des Bindegewebes im Bereich der Organkapsel und der Drüsenausführungsgänge liegen vereinzelt Nervenfaserbündel, was auch bei anderen Vogelarten gefunden wurde (von Das et al. (2003) bei der Ente, von Ohmori et al. (1991) beim Huhn, von Mobini und Aghaabedi (2009) beim

Truthahn und von Mobini (2013) bei der Taube).

In der Wand einiger großer Drüsenausführungsgänge befinden sich zum Teil intramurale Drüsenzellansammlungen und kleine kryptenähnliche Sekretgänge, welche auch bei der Gans (Gülmez 2003) gefunden werden konnten. Diese Beobachtung machten bereits auch Stornelli et al. (2006) beim Strauß. Bei der Taube konnte dies nicht festgestellt werden (Mobini 2013).

Das endokrine Pankreasgewebe, die Langerhans-Inseln sind in allen drei Schenkeln zu finden. Der größte Anteil an inkretorisch wirksamem Gewebe befindet sich im Splenalschenkel. Diese Beobachtungen wurden unter anderem auch beim Huhn (Mikami und Ono 1962; Rawdon und Andrew 1999), bei der Japanischen Wachtel (Scheuerer 1988) und bei der Gans (Gülmez 2004) gemacht. Die Pankreasinseln besitzen unterschiedliche Größe, Gestalt und verschiedene Anteile an endokrinen Zellen. Bei den meisten Autoren wurde nur zwischen zwei Inseltypen unterschieden: kleine helle Inseln (B-Inseln), die in allen Schenkeln anzutreffen waren und große gelappte, dunkle Inseln (A-Inseln), die vor allem im Milzschenkel lokalisiert sind (Scheuerer 1988, Saadatfar und Asadian 2009, Gülmez 2004). In der vorliegenden Studie wurde, wie auch beim Falken (Simsek 2009) die Beobachtung gemacht, dass sowohl kleine als auch große gelappte Inseln in allen Pankreasschenkeln vorkommen. Hierbei wurde jedoch noch etwas genauer zwischen kleinen, mittelgroßen, großen und Riesen-Inseln differenziert, die aufgrund ihrer Größe definiert wurden. Die großen Langerhans-Inseln besitzen Durchmesser bis zu 600 µm, was den Aussagen von Scheuerer (1988) bei der Japanischen Wachtel entspricht. Die kleinsten Pankreasinseln bestehen meist nur aus hellen B-Zellen. Bei den größeren Inseln konnte in der vorliegenden Arbeit bereits zum Teil in den Übersichtsfärbungen zwischen hellen und dunklen Zellen bzw. Zellgruppierungen unterschieden werden. Hierbei ist vor allem bei der Masson-Goldner-Färbung, aber auch bei der HE-Färbung eine Unterscheidung zwischen Zellen mit dunklem Zytoplasma und ovalem, kompaktem Zellkern und Zellen mit hellem Zytoplasma und rundem, chromatinarmem Zellkern möglich. Auch ein dritter Zelltyp (Zwischenform) ist differenzierbar. Dies deutet auf das Vorhandensein unterschiedlicher Zellen (A-, B-, D-, APP-Zellen) hin, die einzelnen Zelltypen lassen sich allerdings durch die konventionellen Färbemethoden nicht eindeutig zuordnen. Nach Aussagen von Nickel et al. (2004), Simsek et al. (2009) und Scheuerer (1988) ist eine histomorphologische

Unterscheidung der endokrinen Zellen in Übersichtsfärbungen nicht möglich.

A-Zellen lassen sich vor allem im peripheren Randbereich der Langerhans-Inseln lokalisieren. Studien am Strauß (Tarakcy et al. 2007), an der Ente (Lucini 1996; Tomita et al. 1985), an der Gans (Gülmez 2004) und am Goldadler (Al-Agele und Mohammed 2012) bestätigten dieses Ergebnis. B-Zellen sind meist im Zentrum der Inseln vorzufinden sind. Dies entspricht den Aussagen von Bagnell et al. (1989) beim Huhn, von Gülmez (2004) bei der Gans und von Tomita et al. (1985) bei der Ente. B-Zellen stellen, wie auch Nickel et al. (2004) darlegen, den Hauptteil der endokrinen Zellen dar. Dies ist ein wesentlicher Unterschied zu den Beobachtungen von (Al-Agele und Mohammed 2012) beim Goldadler. In allen Pankreasschenkeln konnten kleine B-Inseln festgestellt werden, die einheitliche Zellen mit hellem Zytoplasma und runden chromatinarmen Zellkernen enthielten. Dies ist nach Simsek et al. (2009) auch bei der Taube und nach Mobini (2011) bei der Gans zu beobachten. Die großen gelappten Langerhans-Inseln sind in der vorliegenden Studie oftmals gemischte Inseln. Sie enthalten vorwiegend B-Zellen, wobei vereinzelt auch A- und D-Zellen eingelagert waren. Dies entspricht den Ausführungen von Hummel (2000) und Studien über Enten (Das und Biswal 1967) und Falken (Simsek et al. 2009). Sämtliche endokrinen Inseln des Huhnes können laut Watanabe (1990) dem gemischten Inseltyp zugeordnet werden. Bei der Gans (Mobini 2011) und bei Tauben (Mobini 2013) konnten hingegen keine gemischten Langerhans-Inseln differenziert werden. Innerhalb der Langerhans-Inseln befinden sich zahlreiche Blutgefäße, was durch die Beobachtungen von Scheuerer (1988) bei der Japanischen Wachtel bestätigt wird.

Neben den Übersichtsfärbungen kamen in der vorliegenden Arbeit auch noch substrathistochemische Färbungen zum Einsatz. Bei der PAS-Reaktion nach McManus zeigte sich eine deutliche Färbung des Epithels der Sekretgänge, genauer gesagt im supranukleären Bereich der Epithelzellen und im apikalen Zellbereich. Dies lässt auf einen hohen Anteil an Mukopolysacchariden und Glykoproteinen in diesen Lokalisationen schließen. Weder im übrigen exokrinen Gewebe noch in den endokrinen Pankreasinseln konnte eine Reaktion mit PAS festgestellt werden. Diese Ergebnisse stimmen mit den Untersuchungen am Pankreas des Straußes durch Stornelli et al. (2006) überein. Durch die Vorbehandlung mit Amylase kann Glykogen gelöst werden. Der Amylaseverdau führte bei der anschließenden PAS-Färbung zu keinen wesentlichen

Veränderungen, sodass das Vorhandensein von größeren, gespeicherten Mengen Glykogen in den Zellen des exokrinen und endokrinen Pankreas des Straußes ausgeschlossen werden kann.

Die Färbung mit Alcianblau 8 GX ermöglicht eine selektive Färbung von sauren Glykoproteinen (Muzinen). Bei der Durchführung bei einem pH-Wert von 2,5 konnte im exokrinen Pankreasgewebe des Straußes das Epithel der Drüsenausführungsgänge gut dargestellt werden. Dies lässt auf das Vorhandensein von sulfatierten und carboxylierten Makromolekülen schließen. Das Epithel zeigte im supranukleären Bereich und im apikalen Zellbereich eine inhomogene, teilweise intensive blaue Färbung. Dies zeigt das Vorhandensein von sauren Mukosubstanzen, die Teil der Verdauungssekrete sein dürften, an. Auch Schleim produzierende Becherzellen konnten vereinzelt im Epithel aufgefunden werden. Durch die Durchführung der Alcianblau-Färbung bei einem pH-Wert von 1,0 wurde die Dissoziation von Carboxylgruppen in den Glykosaminglykanen und Glykoproteinen unterdrückt, sodass nur noch sulfatierte Glykokonjugate angefärbt wurden. Hierbei konnte eine mittelstarke Reaktion des Epithels der Drüsenausführungsgänge beobachtet werden. Das endokrine Gewebe war bei beiden pH-Werten negativ.

Mithilfe der Transmissionselektronenmikroskopie konnten die Feinstrukturen der exokrinen und endokrinen Zellen im Pankreas des Straußes analysiert werden. Das Zytoplasma der exokrinen Azinuszellen kann in eine basale und eine apikale Zone eingeteilt werden. Im Basalbereich liegen neben dem Zellkern viele Zellorganellen: Mitochondrien vom Cristae-Typ, der Golgi-Apparat, das raue endoplasmatische Retikulum und viele freie Ribosomen. Dies entspricht den Befunden am Pankreas des Straußes von Stornelli (2006). In der apikalen Zone der Azinuszellen befinden sich zahlreiche Zymogenvesikel von unterschiedlicher Elektronendichte und Größe. Die zunehmende Elektronendichte zeigt den Reifungsprozess bei der Bildung der Zymogengranula an.

Die endokrinen Langerhans-Inseln lassen sich vor allem durch die charakteristischen Besonderheiten der im Zytoplasma enthaltenen Hormongranula unterscheiden. Die membranhaltigen A-Zellen besitzen einen runden bis ovalen Zellkern mit einem oder mehreren Nucleoli. Die spärlich ausgebildeten Zellorganellen sind im perinukleären Bereich lokalisiert. Die Granula besitzen einen dunklen, elektronendichten Zentralanteil mit einem sehr kleinen hellen Hof.

Sie befinden sich meist am vaskulären Pol der Zelle. Diese Beobachtungen stimmen mit den Untersuchungen von Nickel et al. (2004) bei der Wachtel und von Mikami (1971) beim Huhn überein. Die B-Zellen erscheinen in der vorliegenden Studie etwas größer als die A-Zellen. Hier liegen also Unterschiede zur Wachtel vor (Scheuerer 1988; Nickel et al. 2004), wo die A-Zellen als die größten Zellen der Pankreasinseln beschrieben werden. Die Granula der B-Zellen enthalten einen dichten kristalloiden Inhalt mit charakteristischem hellen Hof und einer zarten Membran. Auch D-Zellen konnten in meiner Arbeit nachgewiesen werden. Ihre Granula weisen eine geringere Elektronendichte auf als die der anderen endokrinen Zellen des Pankreas beim Strauß. Des Weiteren konzentrieren sich die Hormongranula am vaskulären Zellpol während die restlichen Zellorganellen an der gegenüberliegenden Zellseite lokalisiert sind. Dies entspricht den Beobachtungen von Scheuerer (1988) bei der Japanischen Wachtel und von Kobayashi (1969) bei der Taube. Gülmez (2003) konnte diese Tatsache bei der Gans nicht bestätigen. Hier liegen die Granula gleichmäßig im Zytoplasma verteilt. APP-Zellen konnten vereinzelt im exokrinen Gewebe gesichtet werden. Die Lokalisation und Struktur entspricht den Verhältnissen beim Huhn (Larsson et al. 1974; Alumets et al. 1978). Typ IV-Zellen, welche bei der Wachtel nachgewiesen wurden (Smith 1974) konnten beim Strauß nicht entdeckt werden. Auch die „enterochromaffinähnlichen Zellen“, wie sie von Scheuerer (1988) und Nickel et al. (2004) beschrieben wurden, konnten nicht lokalisiert werden. Auch die von Mikami und Mutoh (1971) beschriebenen „Acinar-islet cells“, welche endokrine und exokrine Komponenten enthalten, konnten in der durchgeführten Studie nicht nachgewiesen werden.

Bei den immunhistochemischen Untersuchungen wurden Antikörper zum Nachweis von α -SMA, Myosin, Cytokeratinen, Vimentin und Tubulin, sowie zum Hormonnachweis von Insulin und Glukagon verwendet. Zur Detektion von Strukturen des Zytoskeletts konnten die dafür verantwortlichen Proteinstrukturen mittels immunhistochemischen Färbemethoden nachgewiesen und somit die Herkunft der Zellen bestimmt werden. Das Zytoskelett besteht aus Intermediärfilamenten, Aktinfilamenten und Mikrotubuli. Das „smooth muscle actin“ (α -SMA) findet sich in glatten Muskelzellen. Es konnte in der vorliegenden Studie vor allem in den Gefäßwänden und im zirkulären Bereich des Ausführungsgangsystems nachgewiesen werden. Aktinfilamente werden als

Marker für kontraktile Zellen angesehen, sodass eine kontraktile Aktivität der größeren Sekretgänge (Ductus interlobulares und Ductus pancreaticus) angenommen werden kann. Nach Studien von Vandekerckhove und Weber (1978) sind diese Zellen wichtig für den Weitertransport des Drüsenprodukts.

Myosin ist ein Motorprotein und ist neben Muskelkontraktionen auch am intrazellulären Transport beteiligt (Eckert et al. 2002). Des Weiteren spielt es eine zentrale Rolle bei der Kontrolle der Zelladhäsion und -bewegung (Vicente-Manzanares et al. 2009). Myosin konnte im Pankreas des Straußes vor allem im Bereich des apikalen Epithelbereichs der Drüsenausführungsgänge lokalisiert werden. Des Weiteren finden sich Myosin-positive Zellen innerhalb der Pankreasinseln. Laut Arous et al. (2013) konnte in B-Zellen des Pankreas von der Ratte eine Interaktion des non-muscle Myosin II mit F-Aktin beobachtet werden. Es agiert hier als Aktin-Motorprotein und ist an der Insulin-Sekretion beteiligt. Außerdem ist es am Transport der Hormon-Granula zur basalen Zellmembran, wo das Hormon dann in das Gefäßsystem abgegeben wird, beteiligt.

Als wichtigster Bestandteil des Zytoskeletts wurden Cytokeratine nachgewiesen. Sie gehören der Gruppe der Intermediärfilamente an und bauen einen intrazellulären Zusammenschluss aus, der mit den Desmosomen in Verbindung steht (Palacios et al. 1993). Bei den bisher bekannten Cytokeratinen wird zwischen sauren und basischen Cytokeratinen unterschieden. In der vorliegenden Arbeit wurde ein Antikörper (Pancytokeratin-Antikörper) eingesetzt, der gegen beide Cytokeratingruppen gerichtet ist. Eine immunpositive Reaktion im Pankreasgewebe des Straußes bleibt auf das Ausführungsgangsystem beschränkt. Besonders am Epithel der Sekretgänge zeigt sich eine starke Reaktion. Bei Untersuchungen am Pankreas der Ratte durch Bouwens et al. (1995) und Bouwens und DeBlay (1996) konnte ebenfalls eine starke positive Reaktion des Cytokeratin-Antikörpers festgestellt werden. Auch im Pankreas des Menschen zeigt sich vor allem im Epithel der Ausführungsgänge eine stark positive Reaktion des Cytokeratin-Antikörpers (Real et al. 1993; Bouwens 1998). Im endokrinen Gewebe konnten neben negativen Inselzellen auch immunpositive Zellgruppen gesichtet werden. Dies entspricht den Beobachtungen von Bouwens und DeBlay (1996).

Vimentin ist wie die Cytokeratine und Desmin ein Vertreter der Intermediärfilamentproteine. Es findet sich im Zytoplasma von Zellen

mesenchymalen Ursprungs. Bei der Verankerung der Zellorganellen im Zytoplasma und ihren Interaktionen spielt es eine wichtige Rolle (Katsumoto et al. 1990). Im Pankreasgewebe des Straußes zeigt sich eine positive Reaktion auf Vimentin im Zytoplasma der Bindegewebszellen, welche die Sekretgänge zirkulär umgeben. Das Epithel dieser Drüsenausführungsgänge bleibt negativ, was ihren entodermalen Ursprung bei der Embryonalentwicklung bestätigt. Eine starke Reaktion kann im Endothel der Gefäße (vor allem der Arterien) und im Bindegewebe der Nerven beobachtet werden. Innerhalb der Langerhans-Inseln kann lediglich eine Reaktion des interstitiellen Bindegewebes und der Kapillarendothelien festgestellt werden. Das endokrine Parenchym verhält sich negativ. Dieselben Beobachtungen machten auch Bouwens und DeBlay (1996) sowohl im endokrinen als auch im exokrinen Pankreasgewebe der Ratte.

Tubulin bildet zusammen mit den Aktin- und Intermediärfilamenten das Zytoskelett von Zellen. Es spielt als Untereinheit von Proteinen der Mikrotubuli eine wichtige Rolle im intrazellulären Transport und anderen Zellfunktionen. Tubulin ist unter anderem am Transport von exportfähigen Proteinen mitverantwortlich (Launay et al. 1983). In der Bauchspeicheldrüse des Straußes zeigt sich eine starke Reaktion am Epithel der Sekretgänge, besonders im luminalen Bereich. Auch in den glatten Muskelzellen der Tunica media der Gefäße kann eine positive Reaktion auf Tubulin nachgewiesen werden. Die Gefäßendothelien zeigen eine ausgeprägte Immunfärbung. Auch das endokrine Inselgewebe reagiert leicht positiv. Pipeleers et al. (1976) berichten in einer Studie über das Pankreas von Ratten vom Einfluss der Insulinsekretion auf die Tubulin-Synthese-Rate. Lacy et al. (1968) nahmen an, dass der Vektortransport der B-Zell-Granula zur Zellmembran entlang eines mikrotubulären und mikrofilamentären Netzwerks erfolgt. Basierend auf dieser Voraussetzung wurde von Pipeleers et al. (1976) festgestellt, dass der Tubulin-Gehalt im Pankreas von Ratten nach Futteraufnahme und Glukoseverabreichung stark anstieg. Bei Ratten, die über einen Zeitraum von 72 Stunden gefastet hatten, konnte ein Tubulinrückgang von über 27% gemessen werden.

Mit dem eingesetzten Glukagon-Antikörper (Anti Goat IgG vom Kaninchen, Dako) konnte trotz unterschiedlicher Vorbehandlung und mehrfacher Durchführung der Inkubation mit verschiedenen Konzentrationen des Glukagon-Antikörpers keine Anfärbung der A-Zellen erzielt werden. In einer Studie am

Pankreas des Straußes von Tarakcy et al. (2007) wurde jedoch derselbe Antikörper mit gleicher Vorbehandlung verwendet, wobei eine positive Reaktion in Glukagon produzierenden A-Zellen festgestellt werden konnte. Das negative Ergebnis in der vorliegenden Studie könnte auf eine fehlende Kreuzreaktion des eingesetzten Antikörpers zurückzuführen sein.

Mit dem immunhistochemischen Nachweis von Insulin ließ sich jedoch die für den Strauß charakteristische Verteilung der endokrinen Zellen innerhalb der Langerhans-Inseln relativ gut darstellen. Die größten und meisten Pankreasinseln sind im Splenalschenkel vorzufinden. Diese Aussage trifft nach Simsek et al. (2009) auch für den Falken zu. Die kleinen B-Inseln sind beim Strauß in allen Schenkeln der Bauchspeicheldrüse vorzufinden. Sie bestehen meist oder oftmals auch komplett aus B-Zellen und sind kleiner als die großen A-Inseln. Die immunpositiven B-Zellen der größeren Inseln sind meist im Zentrum der Inseln lokalisierbar. Die randständigen Zellen sind oftmals immunnegativ bzgl. der Insulin-Reaktion. Zu diesem Ergebnis kamen auch Gülmez et al. (2004) bei Untersuchungen an der Gans und Simsek et al. (2009) bei Studien am Falken. Tarakcy et al. (2007) teilen die endokrinen Inseln beim Strauß in 3 Zonen ein: Zentral-, Mantel- und Peripherzone. Dabei war Insulin nur im Zentrum nachweisbar, während Glukagon in der Mantel- und Peripherzone gefunden werden konnte. Somatostatin hingegen wurde in allen drei Zonen zu gleichen Teilen nachgewiesen. Die B-Inseln bestehen zu einem Großteil aus B-Zellen. Diese Beobachtungen machten auch Gülmez et al. (2004) bei der Gans. In den A-Inseln wurden in eben erwähnter Studie jedoch keine B-Zellen gefunden. Dies konnte in der vorliegenden Arbeit nicht beobachtet werden. Bei Huhn können nach Watanabe (1990) sämtliche Pankreasinseln dem gemischten Inseltyp zugeordnet werden. Im endokrinen Pankreas der Gans konnten hingegen keine gemischten Langerhans-Inseln beobachtet werden (Gülmez et al. 2004, Mobini 2011), auch nicht bei Tauben (Mobini 2013). Im endokrinen Pankreas von Enten (Das und Biswal 1967, Lucini et al. 1996) und bei der Wachtel (Simsek et al. 2008) hingegen wurden gemischte Inseltypen festgestellt.

Mithilfe der Alcianblau-Färbung und der PAS-Reaktion konnten bereits Glykoproteine und Glykosaminglykane nachgewiesen werden. Mittels FITC-markierten Lektinen ist eine spezifische Anfärbung bestimmter Kohlenhydratstrukturen möglich. Dabei wurde die Spezifität der Reaktionen

durch die kompetitive Hemmung durch einen spezifischen Hemmzucker verifiziert. Die 16 verwendeten FITC-markierten Lektine (ConA, LCA, PSA, PNA, RCA, DBA, GSL-1, SJA, SBA, SNA, WGA, WGAs, UEA-1, MAL-1, PHA-E und PHA-L) zeigten mit Ausnahme von PNA, DBA und SJA im Pankreas des Straußes ein charakteristisches Bindungsmuster. Dabei wurde ausschließlich Bouin-fixiertes Material verwendet. Söderström et al. (1984) fanden heraus, dass unterschiedliche Fixierungen des Gewebes einen Einfluss auf die Bindungsfähigkeit der Lektine zu den Kohlenhydratstrukturen besitzen. Bei Bouin-fixierten Proben erfolgt eine stärkere Bindung der Lektine ConA, PNA, RCA, DBA, SBA, WGA und UEA-1 als in Formalin-fixierten Geweben. Bei Proben in Formalin-Fixierung erfolgt keine Bindung mit ConA, WGA, WGAs und RCA. PNA wiederum bindet nach Fixierung mit Formalin.

Bei meinen Untersuchungen im Pankreas des Straußes konnten D-Mannose, D-Galaktose, N-Acetyl-D-Galaktosamin, N-Acetyl-D-Glukosamin, Fucose und komplexen Kohlenhydrate in bestimmten Gewebestrukturen nachgewiesen werden. Zur Detektion von Mannose-Resten wurden die Lektine ConA, LCA und PSA eingesetzt. Sowohl das exokrine als auch das endokrine Pankreasgewebe zeigt viele Bindungsstellen mit dem Lektin ConA. Die Azinuszellen weisen eine starke Fluoreszenz des Zytoplasmas auf. Die Sekretgänge zeigen keine Bindungsstellen. Dieses Ergebnis stimmt überein mit Untersuchungen bei Ratten und Kaninchen (Jeraldo et al. 1996). Willemer und Adler (1989) hingegen beschreibt in einer Studie über Ratten eine positive Reaktion von ConA an den Sekretgängen. Das endokrine Pankreasgewebe zeigt in der vorliegenden Studie nur eine sehr leichte Fluoreszenz nach Inkubation mit ConA-FITC. Gheri et al. (1997) beschreiben in einer Studie über die Bauchspeicheldrüse des Huhnes ebenfalls eine starke Reaktion von ConA vor allem mit dem exokrinen aber auch mit dem endokrinen Pankreasgewebe.

Auch LCA weist zahlreiche Bindungsstellen im Pankreasgewebe des Straußes auf. Das Zytoplasma erscheint vor allem im Basalbereich der Azinuszellen inhomogen fluoreszierend. Die Zellmembranen der Gefäße und Sekretgänge, sowie die Zellmembranen der Azinuszellen zeigen eine deutliche Bindung von LCA. Ebenso das endokrine Pankreasgewebe, vor allem die darin enthaltenen stark fluoreszierenden Hormongranula. Jeraldo et al. (1996) bestätigen diese Aussagen in ihren Studien über Ratten und Kaninchen. Auch Schulte und Spicer

(1983) beschreiben in einer Forschungsarbeit über Mäuse die starke Bindung der Azinuszellen und der endokrinen Inseln mit LCA. Sowohl ConA als auch LCA sind Mannose-/Glukose bindende Lektine und weisen somit ähnliche Bindungseigenschaften auf. Dennoch gibt es geringfügige Unterschiede der Bindungsmuster dieser Lektine und somit stellen sich manche Gewebestrukturen unterschiedlich fluoreszierend dar. Dies beruht auf der Tatsache, dass LCA stärker an Mannose-Strukturen mit einem α -1,6-Fucose-Rest bindet. Dieser Fucose-Rest spielt eine entscheidende Rolle in der Wechselwirkung zwischen dem Lektin und dem Mannose-Kern. Die Bindungsbereitschaft von ConA für Glykane ist jedoch unabhängig von der Anwesenheit von Fucose (Roth 2011; Pavelka und Ellinger 1989).

PSA weist als weiteres Mannose-bindendes Lektin Bindungsstellen im Zytoplasma und in der Basalmembran der Azinuszellen auf. Die Zymogengranula erscheinen vor allem im Epithel der größeren Sekretgänge stark fluoreszierend. Das Zytoplasma der Pankreasinseln und die beinhaltenden Hormongranula besitzen eine hohe Bindungsfähigkeit für PSA. Dieses Resultat stimmt mit den Untersuchungen von Jeraldo et al. (1996) überein, welche im Pankreas von Ratten und Kaninchen eine hohe Bindungsbereitschaft von PSA zu Basalmembranen und Zymogengranula festgestellt haben.

Das Galaktose-bindende Lektin RCA weist Bindungsstellen hauptsächlich im exokrinen Pankreasgewebe und im interstitiellen Bindegewebe auf. Vor allem die Basalmembranen der Azinuszellen sowie die apikalen und luminalen Bereiche dieser Zellen erscheinen stark RCA-positiv. Auch das Bindegewebe zwischen den Azini und in der Gefäßwand weist eine starke Bindung von RCA-FITC auf. Dies konnte auch im Pankreas von Ratten (Willemer und Adler 1989) festgestellt werden. Das endokrine Gewebe hingegen weist keine Bindungsstellen für RCA auf. Dies ist ein Unterschied zu den Ergebnissen von Willemer und Adler (1989), die RCA-Bindungsstellen im endokrinen Gewebe nachgewiesen hatten. Eine Bindung von PNA konnte im Pankreas des Straußes nicht nachgewiesen werden. Dies entspricht den Ergebnissen von Scheuerer et al. (1988) am Pankreas der Japanischen Wachtel und von Schulte und Spicer (1984) bei der Ratte.

Bei den N-Acetyl-D-Galaktosamin bindenden Lektinen DBA, GSL-1, SJA konnten im Pankreasgewebe des Straußes nur Bindungsstellen für GSL-1 nachgewiesen werden. Sowohl DBA als auch SJA besitzen, wie auch im Pankreas

verschiedener anderer Tierarten schon beobachtet wurde, keine Bindungsstellen im Pankreas des Straußes. Scheuerer (1988) beschreibt in seiner Dissertation über das Pankreas der Japanischen Wachtel ebenso eine negative Reaktion mit DBA im Pankreasgewebe. Jeraldo (1996) fand Bindungsstellen von DBA im Pankreas der Ratte, jedoch nicht beim Kaninchen. Schulte und Spicer (1983) konnten im Pankreas der Maus keine Reaktion nach Inkubation mit DBA feststellen.

Beim Lektinbindungsstellennachweis für Galaktose und N-Acetyl-D-Galaktosamin konnten Bindungsstellen sowohl mit SBA als auch für SNA lokalisiert werden. Sowohl im exokrinen als auch im endokrinen Zytoplasma kann bei beiden Lektinen eine leicht positive Reaktion festgestellt werden. Während SBA vor allem Bindungsstellen an der Basalmembran der Azinuszellen besitzt, war diese für SNA negativ. Schulte et al. beschreiben bei der Ratte (1984) und bei der Maus (1983) die Bindung von SBA in den Azinuszellen, jedoch konnten bei diesen Tierarten keine Bindungsstellen im endokrinen Pankreasgewebe lokalisiert werden. SBA-Bindungsstellen wurden von Gheri et al. (1997) im Pankreasgewebe des Huhnes vor allem in den Inselzellen beschrieben. Diese Befunde zeigen auf, dass bei den von Schulte et al. (1984) untersuchten Säugetieren keine Bindungsstellen für SBA-FITC im endokrinen Pankreasgewebe vorliegen. Bei den Untersuchungen am Pankreas von Vögeln jedoch konnten Bindungsstellen für SBA in den Langerhans-Inseln nachgewiesen werden.

Die Bindung mit dem Weizenkeimagglutinin und seiner succinylierten Form ist sowohl zum exokrinen als auch zum endokrinen Pankreasgewebe sehr stark. Auch die Gefäßendothelien besitzen zahlreiche Bindungsstellen für diese Lektine. Bei den Azinuszellen treten die Basalmembranen und lateralen Zellmembranen stark in Erscheinung und auch die Zymogengranula stellen sich stark fluoreszierend dar. Das Inselparenchym besitzt ein hohes Bindungsvermögen für WGA und WGAs. Die von den Inselzellen produzierten Hormone sind Glykoproteine und weisen viele N-Acetylglucosamin- und Sialinsäurereste in ihrem Kohlenhydratanteil auf.

L-Fucose konnte mit dem Lektin UEA-1 im Pankreas des Straußes in nahezu allen wichtigen Strukturen nachgewiesen werden. Die exokrinen Azinuszellen und die endokrinen Inselzellen besitzen viele Bindungsstellen für dieses Lektin. Die Basalmembranen der Azini und das Epithel der Sekretgänge besitzen eine hohe Bindungskapazität für das Lektin UEA-1. Jeraldo et al. (1996) beschreiben in

Untersuchungen am Pankreas von Ratten ebenfalls die Bindung dieses Lektins an die basolateralen Membranen der Azinuszellen sowie an die Zymogengranula. Beim Kaninchen konnten sie jedoch keine Bindungsstellen für UEA-1 nachweisen. Willemer und Adler (1996) zeigten bei Ratten ebenfalls eine deutliche Bindung von UEA-1 im exokrinen Pankreas. Im Inselparenchym konnten sie mit UEA-1 keine Fucosereste nachweisen.

Die Oligosaccharid-bindenden Lektine PHA-E und PHA-L weisen Bindungsstellen sowohl im exokrinen als auch im endokrinen Pankreasgewebe auf. MAL-1 bindet nur im exokrinen Pankreasgewebe. Im Gegensatz zu MAL-1 weisen die Phaseolus vulgaris Agglutinine eine höhere Bindung im Pankreasgewebe des Straußes auf. Sowohl an den Basalmembranen als auch an den Drüsengangepithelien konnte eine Bindung nachgewiesen werden.

Durch den Einsatz von glyko- und immunhistochemischen Verfahren in Zusammenarbeit mit transmissionselektronenmikroskopischen Beobachtungen konnten im Verlauf der Studie die histologischen und funktionellen Zusammenhänge beschrieben werden und somit bestehende Erkenntnisse über die Enzym- und Hormonsynthese im Pankreas des Straußes verifiziert und erweitert werden.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Dissertation wurden die Bauchspeicheldrüsen von zehn Afrikanischen Straußen (*Struthio camelus*) im Alter von 14-18 Monaten entnommen und mit histologischen, glykohistochemischen, immunhistochemischen und elektronenmikroskopischen Techniken untersucht. Das Geschlecht der Tiere beeinflusste die Ergebnisse nicht. Meine Untersuchungen zeigen, dass das Pankreas des Straußes in der Morphologie, neben einigen Besonderheiten, viele Übereinstimmungen mit anderen Vogelarten aufweist. Das Pankreas des Straußes liegt in einer Serosadoppellamelle zwischen dem absteigenden und aufsteigenden Duodenalschenkel in der rechten Abdominalhöhle. Der Dorsalschenkel ist im Gegenteil zu anderen Studien über Vögel länger und schwerer als der Ventralschenkel. Der Splenalschenkel ist beim Strauß schon makroskopisch gut identifizierbar. Das Pankreas weist beim Strauß nur einen Ductus pancreaticus auf, der in die Papilla duodenalis des Dünndarms mündet. In der Wand größerer Drüsenausführungsgänge befinden sich vereinzelt intramurale Drüsenansammlungen und kryptenähnliche Sekretgänge. Die größten und meisten Pankreasinseln befinden sich im Splenalschenkel. Die Inseln wurden im Zuge der Studie aufgrund ihrer Größe in kleine homogene Inseln (bis 100 µm), mittelgroße Inseln (100 – 250 µm), große Inseln (250 – 400 µm) und Rieseninseln (bis 600 µm) eingeteilt. Innerhalb der größeren Inseln stellte sich beim Strauß, wie bei vielen anderen Vogelarten eine charakteristische Verteilung der endokrinen Zellen heraus. B-Zellen liegen im Zentrum der Inseln, während A-Zellen eher im peripheren Randbereich liegen. Das interstitielle Bindegewebe der Langerhans-Inseln ist reich kapillarisiert. Der apikale Zellbereich und der supranukleäre Bereich der Azinuszellen reagiert bei der PAS-Reaktion stark positiv. In der Transmissionselektronenmikroskopie erweist sich das exokrine Pankreasgewebe des Straußes ähnlich dem der in bereits vorangegangenen Studien beschriebenen Geweben bei anderen Vogelarten. Auch die endokrinen A-, B-, D-, APP-Zellen besitzen vergleichbares Aussehen. Es konnten keine Typ IV-Zellen, „enterochromaffinähnlichen“ Zellen oder Acinar-islet cells beschrieben werden. Die glykohistochemischen Studien zeigten eine besonders starke Affinität des Gewebes zu den Lektinen ConA, LCA, PSA, RCA, WGA, WGAs und UEA-1. Die Lektine PNA, DBA und SJA zeigen weder im exokrinen, noch im endokrinen Gewebe eine Bindungen. Bei immunhistochemischen Untersuchungen

konnten im Pankreasgewebe des Straußes die Intermediärfilamentproteine (Cytokeratine, Vimentin), α -SMA, Myosin und Tubulin nachgewiesen werden. Insulin konnte mit dem eingesetzten Antikörper nachgewiesen werden und die Verteilung der B-Zellen in den Inseln dargestellt werden. Der immunhistochemische Nachweis von Glukagon verlief negativ, was auf die fehlende Kreuzreaktion des eingesetzten Antikörpers zurückzuführen sein dürfte.

VII. SUMMARY

Immunohistochemical, ultrastructural and glycohistochemical studies on the pancreas of the African ostrich (*Struthio camelus*)

In the present thesis the pancreas of the African ostrich (*Struthio camelus*) was studied using histological, histochemical and ultrastructural techniques. The results did not depend on the sex of the animals. My results show that the morphology of the pancreas of the ostrich is, apart from few characteristics, which are typical for the ostrich, similar to other avian species. The pancreas of the ostrich is located in the right abdominal cavity in a serosa duplicature between the descending and ascending part of the duodenal limb. Different to previous studies of other authors in several avian species I could demonstrate that in the ostrich the dorsal limb exceeds the ventral limb in length and is also significantly heavier than the ventral limb. In the ostrich, the splenic limb of the pancreas could already be identified by the naked eye. The pancreas possesses one duct, which enters the duodenum in the papilla duodenalis. Clusters of exocrine pancreatic tissue could be regularly found in the wall of big excretory ducts. The pancreatic islands could be classified according to their size in four classes: little islets (up to 100 µm), midsize islets (100 – 250 µm), large islets (250 – 400 µm) and giant islets (up to 600 µm). The bigger islet showed a characteristic arrangement of the endocrine cell types. B-cells were mostly located in the centre of the islets, whereas A-cells were usually found in the periphery. The apical cell area and the supranuclear area of the acinar cells showed were strongly PAS-positive. The ultrastructure of the exocrine and endocrine pancreatic tissue of the ostrich pancreas showed many similarities to the pancreas of other avian species. At the ultrastructural level, A-, B-, D- and APP-cells could be clearly identified. Also in the electron microscope, no type IV-cells or „enterochromaffin-like cells“ could be detected. Glycohistochemical studies showed a strong binding of the lectins ConA, LCA, PSA, RCA, WGA, WGAs and UEA-1 in the pancreatic tissue. The lectins PNA, DBA and SJA showed no bindings, neither in the exocrine nor in the endocrine part of the pancreas. The intermediate filament proteins (cytokeratins, vimentin), α -SMA, myosin and tubulin could be immunohistochemically demonstrated in distinct compartment of the pancreatic tissue. Also the histotopic of insulin could be clearly immunohistochemically demonstrated and the distribution of the B-

cells within the pancreatic islets could not enter a bonding in the endocrine tissue of the ostrich pancreas in this study which might be ascribed to a missing cross reaction of the applied antibody.

VIII. VERZEICHNISSE**1. Literaturverzeichnis**

Achilles, W. (2008)

Anatomie für die Tiermedizin. 2. Aufl. Hg. v. F.-V Salomon. Stuttgart: Enke.

Aganga, A. A.; Aganga A. O.; Omphile U. J. (2003)

Ostrich Feeding and Nutrition.

Pakistan Journal of Nutrition 2 (2), S. 60–67

Al-Agele, R. A. A.; Mohammed, F. S. (2012)

Architecture Morphology and Histological Investigations of Pancreas in Golden Eagles (*Aquila Chrysaetos*).

Al-anbar Journal of Veterinary Science 5 (2), S. 149–155

Alumets, J.; Håkanson R.; Sundler F. (1978)

Distribution, ontogeny and ultrastructure of pancreatic polypeptide (PP) cells in the pancreas and gut of the chicken.

Cell and Tissue Research 194, S. 377–386

Arous, C.; Rondas, D.; Halban, P. A. (2013)

Non-muscle myosin IIA is involved in focal adhesion and actin remodelling controlling glucose-stimulated insulin secretion.

Diabetologia 56, S. 792–802

Bagnell, C.; Baker, A., McMurtry J. P.

Immunohistochemical localization of insulin in the chick embryo during development.

General and Comparative Endocrinology 73, S. 293–298

Berg, J. M.; Tymoczko, J. L.; Stryer, L. (2013)

Biochemie. 7. Aufl. Heidelberg: Springer Spektrum.

Bezuidenhout, A. J. (1986)

The topography of the thoraco-abdominal viscera in the ostrich (*Struthio camelus*).

Onderstepoort Journal of Veterinary Research 53 (2), S. 111–117

Bisgaard, H.C; Thorgeirsson, S. S. (1991)

Evidence for a common cell of origin for primitive epithelial cells isolated from rat liver and pancreas.

Journal of Cellular Physiology 147 (2), S. 333–343

Bouwens, L. (1998)

Cytokeratins and cell differentiation in the pancreas.

Journal of Pathology 184, S. 234–239

Bouwens, L.; Braet, F.; Heimberg, H. (1995)

Identification of rat pancreatic duct cells by their expression of cytokeratins 7, 19, and 20 in vivo and after isolation and culture.

Journal of Histochemistry and Cytochemistry 43 (3), S. 245–253

Bouwens, L.; DeBlay, E. (1996)

Islet morphogenesis and stem cell markers in rat pancreas.

Journal of Histochemistry and Cytochemistry 44 (9), S. 947–951

Boyd, W. C.; Shapleigh, E. (1954)

Specific precipitating activity of plant agglutinins (lectins).

Science 119, S. 419

Ching, C. K.; Black, R.; Helliwell, T.; Savage, A.; Barr, H.; Rhodes, J. M. (1988)

Use of lectin histochemistry in pancreatic cancer.

Journal of Clinical Pathology 41, S. 324–328

Cooper, N. F. (1985)

The intermediate filament proteins.

Biochemical Education 13 (4), S. 154–159

Cooper, R. G.; Mahroze, K. M. (2004)

Anatomy and physiology of the gastro-intestinal tract and growth curves of the ostrich (*Struthio camelus*).

Animal Science Journal 75 (6), S. 491–498

Das, L. N.; Biswal, G. (1967)

Microanatomy of intestine, pancreas and liver of the domestic duck (*Anas boschas*).

Indian Veterinary Journal 44 (9), S. 763–766

Das, A.; Das, R. K.; Parida, S.; Mishra, U. K.; Solanki, D. (2003)

Histomorphological study on pancreas of duck (*Anas boschas*).

Indian Journal of Animal Sciences 73 (6), S. 598–599

DeBeer, M.; McMurtry, J. P.; Brocht, D. M.; Coon, C. N. (2008)

An examination of the role of feeding regimens in regulating metabolism during the broiler breeder grower period. 2. Plasma hormones and metabolites.

Poultry Science 87 (2), S. 264–275

Deeming, D. C. (1999)

The ostrich. Biology, production, and health. ed. by D. C. Deeming. Wallingford, Oxon, UK, New York, NY, USA: CABI Publishing

Dong, X. Y.; Wang, Y. M.; Dai, L.; Azzam, M. M. M.; Wang, C.; Zou, X. T. (2012)

Posthatch development of intestinal morphology and digestive enzyme activities in domestic pigeons (*Columba livia*).

Poultry Science 91 (8), S. 1886–1892

Duffy, M. J. (2001)

Clinical uses of tumor markers: a critical review.

Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences 38 (3), S. 225–262

Eckert, R.; Randall D.; Burggren W.; French K. (2002)

Tierphysiologie. 4. Aufl. Stuttgart [u.a.]: Thieme.

Engelhardt, W. von (2009)

Physiologie der Haustiere. 3. Aufl. Stuttgart: Enke.

Evans, T. K.; Litthauer, D.; Oelofsen, W. (1988)

Purification and primary structure of ostrich insulin.

International Journal of Peptide and Protein Research 31 (5), S. 454–462

Freund, M. (2008)

Praktikum der mikroskopischen Hämatologie: Elsevier Health Sciences Germany.

Gabius, H. J. (2009)

The Sugar Code. Fundamentals of Glycosciences. ed. by Hans-Joachim Gabius.
Weinheim: Wiley-VCH.

Gabius, H. J.; Andre, S.; Jimenez-Barbero, J.; Romero, A.; Solis, D. (2011)

From lectin structure to functional glycomics. principles of the sugar code.
Trends in Biochemical Sciences 36 (6), S. 298–313

Gabius, H. J.; Gabius, S. (1993)

Lectins and glycobiology. H.-J. Gabius (eds.). Berlin [u.a.]: Springer.

Gabius, H. J.; Siebert, H. C.; Andre, S.; Jimenez-Barbero, J.; Rudiger, H. (2004)

Chemical biology of the sugar code.
ChemBioChem 5 (6), S. 740–764

Gallagher, J. T. (1984)

Carbohydrate-binding properties of lectins: A possible approach to lectin nomenclature and classification.
Bioscience Reports 4 (8), S. 621–632

Gheri, G Bryk:

Glycoconjugate saccharidic moieties of the exocrine and endocrine pancreas in the chick embryo, newborn and adult.
Biotechnic and Histochemistry 72, S. 158–167

Godwin, A. (2011)

Histochemical Uses Of Haematoxylin - A Review.
International Journal of Research and Reviews in Applied Sciences 1, S. 24–34

Gülmez, N. (2003)

Are glands present in goose pancreatic ducts? A light microscope study.
Journal of Pancreas 4 (3), S. 125–128

Gülmez, N.; Kocamis, H.; Aslan, S.; Nazli, M. (2004)

Immunohistochemical distribution of cells containing insulin, glucagon and somatostatin in the goose (*Anser anser*) pancreas.
Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences 28 (2), S. 403–407

Goldman, J.; Pugh, W.; Yuen, A.; Kimmel, J. R. (1978)

Differentiation of Avian Endocrine Pancreas.

American Diabetes Association 27 (2), S. 478

Goldstein, I. J.; Hayes, C. E. (1978)

The lectins: carbohydrate-binding proteins of plants and animals.

Advanced Carbohydrate Chemistry and Biochemistry 35, S. 127–340

Goldstein, I. J.; Hughes, R. C.; Monsigny, M.; Osawa, T.; Sharon, N. (1980)

What should be called a lectin?

Nature 285 (8), S. 66

Goldstein, I. J.; Poretz, R. D. (1986)

Isolation, Physicochemical Characterization, and Carbohydrate-Binding Specificity of Lectins-2.

The Lectins, S. 33–247

Guesdon, J. L.; Ternynck, T.; Avrameas, S. (1979)

The use of avidin-biotin interaction in immunoenzymatic techniques.

Journal of Histochemistry and Cytochemistry 27 (8), S. 1131–1139

Guha, B.; Ghosh, A. (1978)

A cytomorphological study of the endocrine pancreas of some indian birds.

General and Comparative Endocrinology 34 (1), S. 38–44

Hazelwod, R. L. (1973)

The Avian Endocrine Pancreas.

Integrative and Comparative Biology 13 (3), S. 699–709

Hazelwod, R. L. (1984)

Pancreatic Hormones, Insulin/Glucagon Molar Ratios, And Somatostatin as Determinants of Avian Carbohydrate Metabolism

Journal of Experimental Zoology 232 (3), S. 647-652

Hellerström, Claes (1963)

Enzyme histochemistry of the pancreatic islets in the duck with special reference to the two types of A cells.

Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie 60 (5), S. 688–710

Hennemann, H. H. (1991)

Hämatologie und internistisch-onkologische Zytologie. Lehrbuch und Atlas. Stuttgart, New York: Schattauer.

Hsu, S. M.; Raine, L.; Fanger, H. (1981)

Use of Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) in Immunoperoxidase Techniques: A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures.

Journal of Histochemistry and Cytochemistry 29 (4), S. 577–580

Hsu W.H., Crump M.H. (1989)

The endocrine pancreas

Veterinary Endocrinology and Reproduction, S. 186–201

Huber, F.; Schnauß, J.; Röncke, S.; Rauch, P.; Müller, K.; Fütterer, C.; Käs, J. (2013)

Emergent complexity of the cytoskeleton: from single filaments to tissue.

Advances in Physics 62 (1), S. 1–112

Hummel, G. (2000)

Anatomie und Physiologie der Vögel. Gerhard Hummel. Stuttgart: Ulmer

Iji, P. A. (2005)

Anatomy and digestive physiology of the neonatal ostrich (*Struthio camelus*) in relation to nutritional requirements.

Recent Advances in Animal Nutrition in Australia 15, S. 165–170

Iji, P. A.; van der Walt, J. G.; Brand, T. S.; Boomker, E. A.; Booyse, D. (2003)

Development of the digestive tract in the ostrich (*Struthio camelus*).

Archives of Animal Nutrition 57 (3), S. 217–228

Indu, V. R.; Chungath, J. J.; Harshan, K. R.; Ashok, N.; Lucy, K. M.; Biju, S. (2008)

Microanatomical Studies on the Exocrine Pancreas of Duck.

Indian Veterinary Journal 85 (8), S. 875–877

Jeraldo, T. L.; Coutu, J. A. Verdier P. A.; McMillan, P. N.; Adelson, J. W. (1996)

Fundamental cellular heterogeneity of the exocrine pancreas.

Journal of Histochemistry and Cytochemistry 44 (3), S. 215–220

Karnovsky, M. J. (1965)

A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy.

Journal of Cell Biology. 27 (137A)

Kasper, M.; Karsten, U. (1988)

Coexpression of cytokeratin and vimentin in Rathke's cysts of the human pituitary gland.

Cell and Tissue Research 253 (2), S. 419–424

Katsumoto, T.; Mitsushima, A.; Kurimura, T. (1990)

The role of the vimentin intermediate filaments in rat 3Y1 cells elucidated by immunoelectron microscopy and computer-graphic reconstruction.

Biology of the Cell 68 (2), S. 139–146

Kobayashi, Shigeru Fujita (1969)

Fine structure of mammalian and avian pancreatic islets with special reference to D cells and nervous elements.

Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie 100 (3), S. 340–363

Kolb, G. M. H. (1991)

Vergleichende Histologie. Cytologie und Mikroanatomie der Tiere. Berlin u.a: Springer

Kühnel, W. (2011)

Taschenatlas Histologie: 750 mikroskopische Aufnahmen mit ausführlichen Bildbeschreibungen: Thieme

Kumari, P.; Kemp, S. J. (1998)

Polymorphic microsatellite markers in the ostrich (*Struthio camelus*).

Molecular Ecology 7 (1), S. 133–140

Langslow, D. R.; Butler, E. J.; Hales, C. N.; Pearson, A.W (1970)

The Response of Plasma Insulin, Glucose and non-esterified fatty acids to various Hormones, Nutrients and Drugs in the Domestic Fowl.

Journal of Endocrinology 46 (2), S. 243–260

Larsson, L. I.; Sundler, F.; Hakanson, R.; Pollock, H. G.; Kimmel, J. R. (1974)

Localization of APP, a postulated new hormone, to a pancreatic endocrine cell type.

Histochemistry 42 (4), S. 377–382

Launay, J. F.; Vanier, M. T.; Gendry, P. (1983)

Purification of tubulin from rat pancreas.

Biochemical and Biophysical Research Communications 111 (1), S. 253–258

Liebich, H. G. (2010)

Funktionelle Histologie der Haussäugetiere und Vögel. Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis. Unter Mitarbeit von K.D Kölle S. Maierl J. Reese S. Zengerling G. Budras. 5. Aufl. Stuttgart [u.a.]: Schattauer

Litthauer, D.; Oelofsen, W. (1987)

Purification and primary structure of ostrich pancreatic polypeptide.

International Journal of Peptide and Protein Research 29 (6), S. 739–745

Liu, J.W.; Evans, H.; Larsen, P.; Pan, D.; Xu, S. Z.; Dong, H. C. et al. (1998)

Gross anatomy of the pancreatic lobes and ducts in six breeds of domestic ducks and six species of wild ducks in China.

Anatomia Histologia Embryologia – Journal of Veterinary Medicine Series C 27 (6), S. 413–417

Lucini, C.; Castaldo, L.; Lai, O. (1996)

An immunohistochemical study of the endocrine pancreas of ducks.

European Journal of Histochemistry 40 (1), S. 45–52

McClish, R. D.; Eglitis, J. A. (1969)

Distribution of the A and B Cells and of the Islets (Langerhans) in the Duck Pancreas.

The Ohio Journal of Science 69 (5), S. 285–293

Mensah-Brown, E. P. K.; Bailey, T. A.; Pallot, D. J.; Garner, A. (2000)

Peptidergic hormones and neuropeptides, and aminergic neurotransmitters of the pancreatic islets of the Houbara bustard (*Chlamydotis undulata*).

Journal of Anatomy 196 (2), S. 233–241

Mikami, S. I.; Ono, K. (1962)

Glucagon Deficiency Induced by Extirpation of Alpha Islets of the Fowl Pancreas.
Endocrinology 71 (3), S. 464–473

Mikami, S.; Mutoh, K. (1971)

Light- and electron-microscopic studies of the pancreatic islet cells in the chicken under normal and experimental conditions.
Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie 116, S. 205–227

Mobini, B. (2011)

Histological Studies on Pancreas of Goose (Anser Albifrons)
Veterinary Research Forum 2 (1), S. 25–29

Mobini, B. (2013)

Histochemical and histological studies on the pancreas in mature pigeon (Columba Livia).
European Journal of Experimental Biology 3 (2), S. 148–152

Monsigny, M.; Roche, A.-C.; Sene, C.; Maget-Dana, R.; Delmotte, F. (1980)

Sugar-Lectin Interactions: How Does Wheat-Germ Agglutinin Bind Sialoglycoconjugates?
European Journal of Biochemistry 104 (1), S. 147–153

Mulisch, M.; Welsch, U. (Hrsg.) (2010)

Romeis - Mikroskopische Technik. 18. Aufl. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag

Nickel, R.; Schummer A.; Seiferle E. (2004)

Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Unter Mitarbeit von F. Frewein J. Waibl H. Sinowatz. 3. Aufl. Berlin [u.a.]: Parey (Anatomie der Vögel, 5)

Oakberg, E. F.

Quantitative studies of pancreas and islands of Langerhans in relation to age, sex, and body weight in White Leghorn chickens.
American Journal of Anatomy 84, S. 279–310

Ohmori, Y.; Wakita, T.; Watanabe, T. (1991)

Number and density of intrapancreatic ganglion cells in the chicken.
Journal of the Autonomic Nervous System 34, S. 139–146

Palacios, J.; Regadera, J.; Paniagua, R.; Gamallo, C.; Nistal, M. (1993)

Immunohistochemistry of the human ductus epididymis.

Anatomical Record 235 (4), S. 560–566

Pavelka, M.; Ellinger, A. (1989)

Affinity Cytochemical Differentiation of Glycoconjugates of Small Intestinal Absorptive Cells Using *Pisum sativum* and *Lens culinaris* Lectins

Journal of Histochemistry and Cytochemistry 37 (6), S. 877–884

Pilny, A. A. (2008)

The Avian Pancreas in Health and Disease.

Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice 11 (1), S. 25–34

Pipeleers, D. G.; Pipeleers-Marichal, M. A.; Kipnis, D. M. (1976)

Regulation of tubulin synthesis in islets of Langerhans.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 73 (9), S. 3188–3191

Pühler, A. (2000)

Lexikon Biochemie und Molekularbiologie. Stuttgart [u.a.]: Thieme

Rawdon, B. (1998)

Morphogenesis and differentiation of the avian endocrine pancreas, with particular reference to experimental studies on the chick embryo.

Microscopy Research and Technique 43 (4), S. 292–305

Rawdon, B.; Andrew, A. (1999)

Gut Endocrine Cells in Birds: An Overview, with Particular Reference to the Chemistry of Gut Peptides and the Distribution, Ontogeny, Embryonic Origin and Differentiation of the Endocrine Cells.

Progress in Histochemistry and Cytochemistry 34 (1), S. 1–84

Real, F. X.; Vilá, M. R.; Skoudy, A.; Ramaekers, F. C. S.; Corominas, J. M. (1993)

Intermediate filaments as differentiation markers of exocrine pancreas. II. Expression of cytokeratins of complex and stratified epithelia in normal pancreas and in pancreas cancer.

International Journal of Cancer 54 (5), S. 720–727

Reynolds, E.S. (1963)

The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy.

The Journal of Cell Biology 17, S. 208–212

Richardson, R. L.; Hinton, D. M.; Campion, D. R. (1983)

An improved method for storing and using stains in electron microscopy.

Journal of Electron Microscopy 32 (3), S. 216–218

Richins, C. A. (1945)

The Innervation of the Pancreas

Journal of Comparative Neurology 63 (3), S. 223–236

Romeis, B.; Böck, P.; Denk, H. (1989)

Romeis mikroskopische Technik. 17. Aufl. München [u.a.]: Urban und Schwarzenberg

Roth, J. (2011)

Lectins for histochemical demonstration of glycans.

Histochemistry and Cell Biology 136 (2), S. 117–130

Rüdiger, H.; Gabius, H. J. (1993)

Lectinologie. Geschichte, Konzepte und Pharmazeutische Bedeutung.

Deutsche Apotheker Zeitung 133 (26), S. 15–25

Rüdiger, H.; Gabius, H. J. (2001)

Plant lectins. Occurrence, biochemistry, functions and applications.

Glycoconjugate Journal 18 (8), S. 589–613

Ruffier, L.; Crochet S.; Rideau N. (1998)

Insulin Release by Islets of Langerhans Isolated from Dorsal and Ventral Lobes of Chicken Pancreas.

Annals of the New York Academy of Sciences 839 (1: *Trends in Comparative Endocrinology and Neurobiology: From Molecular to Integrative Biology*), S. 553–555

Saadatfar, Z.; Asadian, M. (2009)

Anatomy of Pancreas in Mynah (*Acridotheres tristis*), S. 191–193

Samols, E.; Tyler, J. M.; Mialhe, P. (1969)

Suppression of Pancreatic Glucagon Release by the Hypoglycaemic Sulphonylureas.

The Lancet 293, S. 174–176

Scheuerer, M. (1988)

Histologische, histochemische und ultrastrukturelle Untersuchungen am Pankreas der Japanischen Wachtel (*Coturnix coturnix japonica*).

Inaugural-Dissertation der Tiermedizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Schulte, B. A.; Spicer, S. S. (1983)

Light microscopic detection of sugar residues in glycoconjugates of salivary glands and the pancreas with lectin - horseradish peroxidase conjugates. I. Mouse.

Histochemical Journal 15, S. 1217–1238

Schulte, B. A.; Spicer, S. S. (1984)

Light microscopic detection of sugar residues in glycoconjugates of salivary glands and the pancreas with lectin-horseradish peroxidase conjugates. II. Rat.

Histochemical Journal 16, S. 3–20

Sharon, N. (1977)

Lectins.

Scientific American 236 (6), S. 108–116; 118

Simsek, N.; Bayraktaroglu, A. G.; Altunay, H. (2009)

Localization of insulin immunopositive cells and histochemical structure of the pancreas in falcons (*Falco Anatum*).

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, Ankara

Simsek, N.; Ozudogru, Z.; Alabay, B. (2008)

Immunohistochemical studies on the splenic lobe of the pancreas in young Japanese quails (*Coturnix c. japonica*).

Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 115 (5), S. 189–193

Sinowatz, F.; Hees, H. (2012)

Histologie. Kurzlehrbuch der Zytologie und mikroskopischen Anatomie. Unter Mitarbeit von Rodler D. 5. Aufl. München: Selbstverlag

Skalli, O.; Ropraz, P.; Trzeciak, A.; Benzonana, G.; Gillesen, D.; Gabbiani, G. (1986)

A monoclonal antibody against α -smooth muscle actin. A new probe for smooth muscle differentiation.

Journal of Cell Biology 103 (6), S. 2787–2796

Smith, P. H. (1974)

Pancreatic islets of the Coturnix quail. A light and electron microscopic study with special reference to the islet organ of the splenic lobe.

The Anatomical Record 178 (3), S. 567–585

Söderström, K. O.; Malmi, R.; Karjalainen, K. (1984)

Binding of fluorescein isothiocyanate conjugated lectins to rat spermatogenic cells in tissue sections. Enhancement of lectin fluorescence obtained by fixation in Bouin's fluid.

Histochemistry 80 (6), S. 575–579

Stillmark, Hermann (1888)

Über Ricin, ein giftiges Ferment aus den Samen von Ricinus comm. L. und einigen anderen Euphorbiaceen.

Stornelli, M. R.; Ricciardi, M. P.; Miragliotta, V.; Coli, A.; Giannesi, E. (2006)

Morpho-structural Study of the Pancreas and Pancreatic Duct in Ostrich (*Struthio camelus* L.).

Acta Veterinaria Brno 75 (2), S. 157–160

Strmsnik, L.; Stevanec, A.; Bavdek, S. V.; Mrzel, I. (1996)

Analysis of the islets langerhans in ostrich (*Struthio camelus*).

Veterinarske novice 22 (6), S. 205–209

Sumner, J. B. (1919)

The Globulins of the jack bean, Canavalia ensiformis.

Journal of Biological Chemistry 37, S. 137–142

Sumner, J. B.; Howell, S. F. (1936)

Identification of Hemagglutinin of Jack Bean with Concanavalin A. In: *The Journal of Bacteriology* 32 (2), S. 227

Tarakcy, B. G.; Yaman, M.; Bayrakdar, A. (2007)

Immunohistochemical Study of the Endocrine Cells in the Pancreas of the ostrich.
Journal of Animal and Veterinary Advances 6 (5), S. 693–696

Ulas, M.; Penkowski, A.; Łakomy, M. (2003)

Adrenergic and cholinergic innervation of the chicken pancreas.
Folia Morphologica 62 (3), S. 243–246

van der Westhuizen, N.; Naude, R. J.; Oelofsen, W. (1989)

The isolation and partial characterization of chymotrypsinogen from the pancreas of the ostrich (*Struthio camelus*).
International Journal of Biochemistry 21 (1), S. 91–97

van Eyk, A. D.; Naudé, R. J.; Oelofsen, W. (1989)

Isolation and partial characterization of lipase from the pancreas of the ostrich (*Struthio camelus*).
Comparative Biochemistry and Physiology 93 (1), S. 181–186

Vandekerckhove, J.; Weber, K. (1978)

At least six different actins are expressed in a higher mammal: An analysis based on the amino acid sequence of the amino-terminal tryptic peptide.
Journal of Molecular Biology 126 (4), S. 783–802

Vicente-Manzanares, M.; Ma, X.; Adelstein, R. S.; Horwitz, A. R. (2009)

Non-muscle myosin II takes centre stage in cell adhesion and migration.
Nature Reviews. Molecular Cell Biology 10 (11), S. 778–790

Wagner, W. M.; Kirberger, R. M. (2001):

Transcutaneous ultrasonography of the coelomic viscera of the ostrich (*Struthio camelus*).
Veterinary Radiology and Ultrasound 42 (6), S. 546–552

Wagner, W. M.; Kirberger, R. M.; Groenewald, H. B. (2001)

Radiographic anatomy of the thoraco-abdominal cavity of the ostrich (*Struthio camelus*).
Journal of the South African Veterinary Association 72 (4), S. 203–208

Watanabe, T.; Morikami, T.; Nagatsu I. (1990)

Immunohistochemical colocalization of glucagon, serotonin, and aromatic L-amino acid decarboxylase in islet A cells of chicken pancreas.

Cell and Tissue Research 259, S. 67–72

Welsch, U. Deller T. (2011)

Sobotta Lehrbuch Histologie - Unter Mitarbeit von Thomas Deller. 3. Aufl.: Urban & Fischer Verlag – Lehrbücher

Willemer, S.; Adler, G. (1989)

Histochemical and ultrastructural characteristics of tubular complexes in human acute pancreatitis.

Digestive Diseases and Sciences 34 (1), S. 46–55

Williams, D. W.; Kendall, M. D. (1981)

The ultrastructure of the centroacinar cells within the pancreas of the starling (*Sturnus vulgaris*).

Journal of Anatomy 135, S. 173–181

Wirth, C.; Schwuchow, J.; Jonas, L. (1996)

Internalization of wheat germ agglutinin (WGA) by rat pancreatic cells in vivo and in vitro.

Acta Histochemica 98, S. 165–172

2. Verzeichnis der Abbildungen

Abb. 1	Afrikanischer Strauß (<i>Struthio camelus</i>).....	13
Abb. 2	Pankreas Strauß, 14 Monate, Pankreas in der Duodenalschleife...	36
Abb. 3	Schematische Darstellung der Probenentnahmestellen beim Strauß.....	37
Abb. 4	Pankreas Strauß, männlich, 14 Monate, Splenalschenkel.....	52
Abb. 5	Pankreas Strauß, 14 Monate, Ductus pancreaticus.....	54
Abb. 6	Pankreas Strauß, 14 Monate, männlich, Blutversorgung des Pankreas	55
Abb. 7	Pankreas Strauß, exokrines Pankreasgewebe, Bindegewebskapsel, HE-Färbung.....	58
Abb. 8	Pankreas Strauß, exokrines Pankreasgewebe, Resorcinfuchsin – van Gieson-Färbung.....	58
Abb. 9	Pankreas Strauß, exokrines Pankreasgewebe, Organkapsel, Masson-Goldner-Färbung.....	58
Abb. 10	Pankreas Strauß, exokrines Pankreasgewebe, Anordnung der Drüsenzini, HE-Färbung.....	58
Abb. 11	Pankreas Strauß, exokrines Pankreasgewebe mit hoher Sekretaktivität, HE-Färbung.....	59
Abb. 12	Pankreas Strauß, exokrines Pankreasgewebe, Masson-Goldner-Färbung.....	59
Abb. 13	Pankreas Strauß, exokrines Pankreasgewebe und Schaltstück, HE-Färbung.....	59
Abb. 14	Pankreas Strauß, exokrines Pankreasgewebe mit hoher Sekretaktivität, Masson-Goldner-Färbung.....	59
Abb. 15	Pankreas Strauß, exokrines Pankreasgewebe und Ductus intralobularis, Masson-Goldner-Färbung.....	60
Abb. 16	Pankreas Strauß, Ductus interlobularis und Blutgefäß, Resorcinfuchsin – van Gieson-Färbung.....	60
Abb. 17	Pankreas Strauß, Ductus intralobularis, Masson-Goldner-Färbung.....	60
Abb. 18	Pankreas Strauß, Ductus interlobularis, HE-Färbung.....	60
Abb. 19	Pankreas Strauß, Ductus interlobularis, Masson-Goldner-Färbung.....	61

Abb. 20	Pankreas Strauß, großer Drüsenausführungsgang, HE-Färbung....	61
Abb. 21	Pankreas Strauß, großer Drüsenausführungsgang, HE-Färbung....	61
Abb. 22	Pankreas Strauß, großer Drüsenausführungsgang, Resorcinfuchsin – van Gieson-Färbung.....	61
Abb. 23	Pankreas Strauß, Gefäße, Masson-Goldner-Färbung.....	62
Abb. 24	Pankreas Strauß, Gefäße, Resorcinfuchsin – van Gieson-Färbung.....	62
Abb. 25	Pankreas Strauß, intramurales exokrines Pankreasgewebe, HE-Färbung.....	62
Abb. 26	Pankreas Strauß, peripherer Nerv, Masson-Goldner-Färbung.....	62
Abb. 27	Pankreas Strauß, kleine Langerhans-Insel, HE-Färbung.....	66
Abb. 28	Pankreas Strauß, kleine Langerhans-Insel, HE-Färbung.....	66
Abb. 29	Pankreas Strauß, mittelgroße Langerhans-Insel, HE-Färbung.....	66
Abb. 30	Pankreas Strauß, große Langerhans-Insel, HE-Färbung.....	66
Abb. 31	Pankreas Strauß, Riesen-Langerhans-Insel, HE-Färbung.....	67
Abb. 32	Pankreas Strauß, endokrines Pankreasgewebe, HE-Färbung.....	67
Abb. 33	Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Resorcinfuchsin – van Gieson-Färbung.....	67
Abb. 34	Pankreas Strauß, kleine Langerhans-Insel, Masson-Goldner-Färbung.....	67
Abb. 35	Pankreas Strauß, Langerhans-Insel mit unterschiedlichen Zelltypen, Masson-Goldner-Färbung.....	68
Abb. 36	Pankreas Strauß, mittelgroße Langerhans-Insel, Masson-Goldner-Färbung.....	68
Abb. 37	Pankreas Strauß, große Langerhans-Insel, Masson-Goldner-Färbung.....	68
Abb. 38	Pankreas-Strauß, Riesen-Langerhans-Insel, Masson-Goldner—Färbung.....	68
Abb. 39	Pankreas Strauß, Ausführungs-gang, PAS-Reaktion nach McManus.....	70
Abb. 40	Pankreas-Strauß, exokrines Pankreasgewebe, PAS-Reaktion nach McManus.....	70
Abb. 41	Pankreas Strauß, exokrines Pankreasgewebe, PAS-Reaktion nach Amylaseverdau.....	71

Abb. 42	Pankreas-Strauß, Sekretgang, PAS-Reaktion nach Amylaseverdau.....	71
Abb. 43	Pankreas Strauß, Epithel Sekret-gang, Alcianblaufärbung 8GX pH 2,5.....	72
Abb. 44	Pankreas Strauß, Sekretgang, Becherzelle, Alcianblaufärbung 8GX pH 2,5.....	72
Abb. 45	Pankreas Strauß, Bindegewebskapsel und Septen im exokrinen Pankreasgewebe, Alcianblau 8GX pH 2,5.....	72
Abb. 46	Pankreas Strauß, Arterie, Alcianblau 8GX pH 2,5.....	72
Abb. 47	Pankreas Strauß, Drüsenausführungsgang, Alcianblaufärbung 8GX pH 1,0.....	73
Abb. 48	Pankreas Strauß, Drüsenausführungsgang, Alcianblaufärbung 8GX pH 1,0.....	73
Abb. 49	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe, Alcianblau 8GX pH 1,0.....	74
Abb. 50	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe Kapselbereich, Alcianblau 8GX pH 1,0.....	74
Abb. 51	Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, PAS-Reaktion nach McManus.....	74
Abb. 52	Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, PAS-Reaktion nach McManus.....	74
Abb. 53	Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, PAS-Reaktion nach Amylaseverdau.....	75
Abb. 54	Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, PAS-Reaktion nach Amylaseverdau.....	75
Abb. 55	Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Alcianblaufärbung 8GX pH 2,5.....	76
Abb. 56	Pankreas Strauß, endokrines Gewebe, Alcianblaufärbung 8GX pH 2,5.....	76
Abb. 57	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe mit BG-Kapsel, Bindung von ConA-FITC.....	77
Abb. 58	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe mit Langerhans-Insel, Bindung von ConA-FITC	78
Abb. 59	Pankreas Strauß, Ductus interlobularis, Bindung von ConA-FITC.....	78
Abb. 60	Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Bindung von LCA-FITC.....	79

Abb. 61	Pankreas Strauß, Gefäße und Sekretgänge, Bindung von LCA-FITC.....	80
Abb. 62	Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Bindung von LCA-FITC ...	80
Abb. 63	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Langerhans-Insel, Bindung von PSA-FITC	81
Abb. 64	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Sekretgang, Bindung von PSA-FITC	82
Abb. 65	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Sekretgang, Bindung von PSA-FITC	82
Abb. 66	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Langerhans-Insel, Bindung von RCA-FITC	83
Abb. 67	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Gefäße, Bindung von RCA-FITC	84
Abb. 68	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe, Bindegewebe, Bindung von RCA-FITC.....	84
Abb. 69	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und BG-Kapsel, Bindung von RCA-FITC	85
Abb. 70	Pankreas Strauß, Bindegewebskapsel, Bindung von GSL-1-FITC	86
Abb. 71	Pankreas Strauß, exokrines und endokrines Gewebe, Bindung von SBA-FITC	87
Abb. 72	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe, Bindegewebskapsel, Bindung von SBA-FITC	87
Abb. 73	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Sekretgänge, Bindung von SNA-FITC	88
Abb. 74	Pankreas Strauß, endokrines Gewebe, Bindung von SNA-FITC ..	89
Abb. 75	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Gefäße, Bindung von SNA-FITC	89
Abb. 76	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Langerhans-Insel, Bindung von WGA-FITC	90
Abb. 77	Pankreas Strauß, exokrines und endokrines Gewebe, Bindung von WGA-FITC	91
Abb. 78	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe, Gefäße, Nerven, Bindung von WGA-FITC	91
Abb. 79	Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Bindung von WGA-FITC....	92

Abb. 80	Pankreas Strauß, Sekretgang, Bindung von WGA-FITC	92
Abb. 81	Pankreas Strauß, kleine Langerhans-Insel und Sekretgang, Bindung von WGA-FITC	93
Abb. 82	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und BG-Kapsel, Bindung von WGA-FITC	93
Abb. 83	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Sekretgang, Bindung von WGAs-FITC	94
Abb. 84	Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Bindung von WGAs-FITC ..	95
Abb. 85	Pankreas Strauß, Gefäße, Bindung von WGAs-FITC	95
Abb. 86	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Sekretgang, Bindung von UEA-1-FITC	96
Abb. 87	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Arterie, Bindung von MAL-1-FITC	97
Abb. 88	Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Bindung von MAL-1-FITC ..	98
Abb. 89	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe, Bindung von PHA-E-FITC.	99
Abb. 90	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Sekretgang, Bindung von PHA-E-FITC	100
Abb. 91	Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Bindung von PHA-E-FITC	100
Abb. 92	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe und Sekretgänge, Bindung von PHA-L-FITC	101
Abb. 93	Pankreas Strauß, exokrines Pankreasgewebe, Bindung von ConA-FITC mit anschließendem Einsatz des Hemmzuckers Methyl- α -Mannopyranoside ¹	103
Abb. 94	Pankreas Strauß, Arterie und Venen, Ductus interlobulares, Immunhistochemischer Nachweis von α -SMA.....	104
Abb. 95	Ductus interlobulares, Immunhistochemischer Nachweis von α -SMA.....	104
Abb. 96	Pankreas Strauß, Sekretgang, Immunhistochemischer Nachweis von Myosin.....	105
Abb. 97	Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Immunhistochemischer Nachweis von Myosin.....	105
Abb. 98	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe, Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratinen.....	106

Abb. 99	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe, Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratinen.....	106
Abb. 100	Pankreas Strauß, Sekretgang, Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratinen.....	107
Abb. 101	Pankreas Strauß, Sekretgang, Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratinen.....	107
Abb. 102	Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratinen.....	107
Abb. 103	Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Immunhistochemischer Nachweis von Cytokeratinen.....	107
Abb. 104	Pankreas Strauß, Sekretgang, Immunhistochemischer Nachweis von Tubulin.....	108
Abb. 105	Pankreas Strauß, Arterie, Nerv, Immunhistochemischer Nachweis von Tubulin.....	108
Abb. 106	Pankreas Strauß, Pankreasinsel, Immunhistochemischer Nachweis von Tubulin.....	109
Abb. 107	Pankreas Strauß, peripherer Nerv, Immunhistochemischer Nachweis von Tubulin.....	109
Abb. 108	Pankreas Strauß, Sekretgang, Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin.....	110
Abb. 109	Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin.....	110
Abb. 110	Pankreas Strauß, Gefäße, Nerven, Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin.....	110
Abb. 111	Pankreas Strauß, Arterie, Immunhistochemischer Nachweis von Vimentin.....	110
Abb. 112	Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Immunhistochemischer Nachweis von Insulin.....	111
Abb. 113	Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Immunhistochemischer Nachweis von Insulin.....	111
Abb. 114	Pankreas Strauß, Langerhans-Insel, Immunhistochemischer Nachweis von Glukagon.....	112
Abb. 115	Pankreas Strauß, Azinuszellen um zentrales Lumen Angeordnet, TEM.....	114
Abb. 116	Pankreas Strauß, exokrine Azinuszellen, TEM.....	115

Abb. 117	Pankreas Strauß, exokrines Gewebe, Zentroazinäre Zellen, TEM.....	116
Abb. 118	Pankreas Strauß, exokrine Azinuszelle, TEM.....	117
Abb. 119	Pankreas Strauß, Zellorganellen exokrines Pankreas, TEM.....	118
Abb. 120	Pankreas Strauß, Venole, endokrines Pankreasgewebe, TEM.....	119
Abb. 121	Pankreas Strauß, Übersicht über A- und B-Zellen, TEM.....	122
Abb. 122	Pankreas Strauß, A-, B- und D-Zellen um eine Kapillare angeordnet, TEM.....	123
Abb. 123	Pankreas Strauß, A- und B-Zelle mit typischen Granula, TEM...	124
Abb. 124	Pankreas Strauß, B-Zelle, TEM.....	125
Abb. 125	Pankreas Strauß, Azinuszellen, APP-Zellen, TEM.....	126

3. Verzeichnis der Tabellen

Tab. 1	Übersicht über die unterschiedlichen endokrinen Zelltypen beim Vogel.....	21
Tab. 2	Einteilung der Lektine nach ihrer Zuckerbindungsspezifität (Goldstein und Poretz 1986).....	29
Tab. 3	Übersicht über die in der Studie verwendeten Tiere.....	35
Tab. 4	Übersicht über die verwendeten Pflanzenlektine, deren Herkunft, Zuckerspezifität und spezifische Hemmzucker.....	45
Tab. 5	Konzentration der Lektine und der verwendeten Hemmzucker mit entsprechenden Inkubationszeiten und Positivkontrollen.....	46
Tab. 6	Übersicht über die verwendeten Primär- und Sekundär-AK.....	49
Tab. 7	Gewicht der einzelnen Pankreasschenkel aller untersuchten Tiere.....	53
Tab. 8	Größe der einzelnen Pankreasschenkel aller untersuchten Tiere...	54
Tab. 9	Ergebnisse der Morphologie der Strukturen im exokrinen Pankreasgewebe des Straußes.....	63
Tab. 10	Morphologie der Pankreasinseln und Typisierung der darin vorkommenden Zellen in den Übersichtsfärbungen.....	69
Tab. 11	Übersicht über die Lektinbindungsstellen im Pankreas des Straußes.....	102
Tab. 12	Übersicht über die Bindungsstellen der verwendeten Antikörper.....	112

IX. ANHANG**1. Lichtmikroskopie****1.1. Fixierung***Bouin'sche Lösung:*

• Gesättigte wässrige Pikrinsäure ¹	375 ml
• 35%iges Formalin ¹	125 ml
• Essigsäure 100% ²	25 ml

Formalin:

35%ige Formaldehydlösung mit PBS-Puffer verdünnt	Verhältnis 1:10
--	-----------------

1.2. Puffer*PBS-Puffer (Phosphate Buffered Saline): pH 7,4-7,6*

• NaCl	42,5
• Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O	6,35
• NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	1,95
• Aqua dest.	ad 5 l
<i>pH-Wert auf 7,4-7,6 einstellen</i>	

DEPC-Wasser:

• Diethylpyrocarbonat C ₆ H ₁₀ O ₅ ¹	1 ml
• Aqua dest.	1 l
<i>im Anschluss autoklavieren</i>	

Citrat-Puffer (pH 6,0):

Stammlösung A:	• 0,1M Citrat C ₆ H ₈ O ₇ H ₂ O ² • Aqua dest.	21,01 g ad 1 l
Stammlösung B:	• 0,1M Natriumcitrat Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ ·2H ₂ O ² • Aqua dest.	29,41 g ad 1 l
Gebrauchslösung:	• Lösung A • Lösung B • Aqua dest.	9 ml 41 ml ad 500 ml

1.3. Lösungen für histologische Färbungen

1.3.1. Hämatoxylin-Eosin (HE)-Färbung nach Mayer

Hämalaun:

• Hämatoxylin C ₁₆ H ₁₄ O ₆ ²	2 g
• Natriumjodat INaO ₃ ²	0,4 g
• Kalialaun AlK(SO ₄) ₂ 12H ₂ O ²	100 g
• Chlorhydrat ²	100 g
• Kristalline Zitronensäure ²	2 g
• Aqua dest.	2 l

Eosin:

1% Stammlösung:	<ul style="list-style-type: none"> • Eosin • Aqua dest. • 37% Formaldehyd 	2 g ad 198 ml 5 Tropfen
Verdünnung für Färbung:	<ul style="list-style-type: none"> • Stammlösung • Aqua dest. • Essigsäure 100%² 	1 Teil 10 Teile 5 Tropfen/100ml Verdünnung

1.3.2. Alcianblau

Alcianblau pH 2,5:

<ul style="list-style-type: none"> • Alcianblau 8GX³ • ad 3% Essigsäure 	5 g 500 ml
<i>pH-Einstellung und Filtration</i>	
• Thymol krist.	0,5 g

Alcianblau pH 1,0:

<ul style="list-style-type: none"> • Alcianblau 8GX³ • ad 0,1N Salzsäure² 	5 g 500 ml
<i>pH-Einstellung und Filtration</i>	
• Thymol	0,5 g

3% Essigsäure:

<ul style="list-style-type: none"> • Essigsäure 100%² • Aqua dest. 	15 ml 485 ml
---	-----------------

Kernechtrot- Aluminiumsulfat ($Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$)₃:

• Aluminiumsulfat ²	5 g
• in Aqua dest. lösen und Lösung erhitzen	100 ml
• Kernechtrot ² einrühren	0,1 g

1.3.3. PAS-Reaktion (Periodic Acid Schiff – Reaktion) nach McManus*α-Amylase 0,5%:*

• α-Amylase ²	10 mg
• Aqua dest.	2 ml

0,5% wässrige Perjodsäure:

• Perjodsäure ²	1 g
• Aqua dest.	200 ml

*Schiffs Reagenz¹**SO₂-Wasser (Sulfit-Wasser):*

N-Salzsäure	• Salzsäure konz. ²	3 ml
	• Aqua dest.	27 ml
10% wässrige Natriumdisulfitlösung	• Natriumdisulfit ²	3 g
	• Aqua dest.	30 ml
Leitungswasser		600 ml

*Hämalaun***1.3.4. Trichromfärbung nach Masson-Goldner***Eisenhämatoxylin nach Weigert:*

Lösung A:	• Hämatoxylin	1 g
	• 96% Ethanol ²	100 ml
<i>eine Woche reifen lassen</i>		
Lösung B:	• EisenIIIchlorid	2,48 g
	• Aqua dest.	100 ml
	• Salzsäure konz. ²	1 ml
<i>Lösung A mit Lösung B im Verhältnis 1:1 direkt vor Gebrauch frisch anmischen</i>		

Azophloxinlösung:

• Azophloxin	0,5 g
• Aqua dest.	100 ml
• Essigsäure 100% ²	0,2 ml

1% Essigsäure:

• Essigsäure 100% ²	10 ml
• Aqua dest.	ad 1 l

Phosphormolybdänsäure-Orange:

• Phosphormolybdänsäure ²	3,5 g
• Aqua dest.	100 ml
• Essigsäure 100% ²	0,2 ml

Lichtgrün:

• Lichtgrün ²	0,2 g
• Aqua dest.	100 ml
• Essigsäure 100% ²	0,2 ml

1.3.5. Resorcinfuchsin – van Gieson-Färbung*Resorcinfuchsin:*

Lösung A	• Fuchsin	2 g
	• Resorcin	4 g
Lösung B	• EisenIIIchlorid	8 g
<ul style="list-style-type: none"> • Lösung A bis zum Kochen erhitzen • Lösung B dazu geben und unter Schwenken 5 min. sieden • Auf Raumtemperatur abkühlen lassen und anschließend filtrieren • Filter mit Niederschlag in Erlmeyerkolben geben, mit 350 ml 96% Alkohol übergießen • Bis zum Siedepunkt erhitzen, Niederschlag geht dabei in Lösung • Auf Raumtemperatur abkühlen lassen und 2,8 ml konz. Salzsäure zugeben, filtrieren 		

*Kernechtrot- Aluminiumsulfat**Eisenhämatoxylin*

Pikrinsäure-Thiazinrot-Lösung nach Domagk

Pikrinsäure ¹ (gesättigt)		100 ml
1% wässrige Thiazinlösung	<ul style="list-style-type: none"> • Thiazinpulver • Aqua dest. 	0,1 g 10 ml
7,5 ml 1% Thiazinlösung zu 100 ml Pikrinsäure geben		

2. Lösungen für die glykohistochemischen Untersuchungen*DAPI (4', 6-Diamidino-2-phenylindol)-Verdünnung:*

<ul style="list-style-type: none"> • DAPI-Verdünnung¹ (1 µg/µl) • PBS 	1 µl 1 ml
--	--------------

Natrium-Acetatpuffer (pH 5,5):

<ul style="list-style-type: none"> • Natrium-Acetat wasserfrei² • in Aqua dest. Lösen 	13,6 g 1 l
→ pH 5,5 mit 10% Essigsäure ¹ einstellen	

Natrium-Acetat-Calcium-Chlorid-Puffer (pH 5,0):

<ul style="list-style-type: none"> • Natrium-Acetat wasserfrei² • in Aqua dest. lösen • Calcium-Chlorid² 	8,2 g 1 l 0,294 g
→ pH 5,0 mit 1M HCl ¹ einstellen	
→ Auf Wärmeplatte auf 37°C bis 40°C erwärmen	

*VECTASHIELD® Mounting Medium for Fluorescence with DAPI⁹**Protein Block Serum-Free⁷**Streptavidin-FITC⁷**Methyl-α-Mannopyranosid¹³**Chitin Hydrolysat⁹*

Lektine

Lektin	Abkürzung	Zuckerspezifität
<i>Concanavalin Agglutinin</i>	<i>ConA</i>	<i>Man/Glc</i>
<i>Dolichos biflorus Agglutinin</i>	<i>DBA</i>	<i>GalNAc</i>
<i>Griffonia simplicifolia Agglutinin-1</i>	<i>GSL-1</i>	<i>GalNAc</i>
<i>Lens culinaris Agglutinin</i>	<i>LCA</i>	<i>Man/Glc</i>
<i>Maackia amurensis Agglutinin</i> <i>Leukoagglutinin-1</i>	<i>MAL-1</i>	**
<i>Phaseolus vulgaris Erythroagglutinin</i>	<i>PHA-E</i>	**
<i>Phaseolus vulgaris Leukoagglutinin</i>	<i>PHA-L</i>	**
<i>Peanut Agglutinin</i>	<i>PNA</i>	<i>Gal</i>
<i>Pisum sativum Agglutinin</i>	<i>PSA</i>	<i>Man/Glc</i>
<i>Ricinus communis Agglutinin</i>	<i>RCA</i>	<i>Gal</i>
<i>Soybean Agglutinin</i>	<i>SBA</i>	<i>GalNAc</i>
<i>Sophora japonica Agglutinin</i>	<i>SJA</i>	<i>GalNAc</i>
<i>Sambucus nigra Agglutinin</i>	<i>SNA</i>	<i>Gal/GalNAc</i>
<i>Ulex europaeus Agglutinin 1</i>	<i>UEA-1</i>	<i>Fuc</i>
<i>Wheat germ Agglutinin</i>	<i>WGA</i>	<i>GlcNAc/NeuNAc</i>
<i>Wheat germ Agglutinin succinyliert</i>	<i>WGAs</i>	<i>GlcNAc *</i>

*WGAs: bei physiologischem pH-Wert negativ geladen, WGA: positiv geladen

WGAs bindet nicht an Glykokonjugate, die N-Acetyl-D-Neuraminsäure enthalten, bindet aber an N-Acetyl-D-Glukosamin enthaltende Glykokonjugate. Somit kann der N-Acetyl-D-Neuraminsäuregehalt ermittelt werden (Monsigny et al. 1980)

**keine Spezifität für Monosaccharide bekannt

Grau unterlegte Zeilen enthalten biotinylierte Lektine.

3. Lösungen für die immunhistochemischen Untersuchungen

PBS-Puffer (Phosphate Buffered Saline): pH 7,4-7,6

<ul style="list-style-type: none"> • NaCl • Na₂HPO₄·2H₂O • NaH₂PO₄·H₂O • Aqua dest. 	42,5 g 6,35 g 1,95 g ad 5 l
<i>pH-Wert auf 7,4-7,6 einstellen</i>	

DAB-Hydrogenperoxidlösung: DAB = 3,3 Diaminobenzidin

Stammlösung: (Hydrogenperoxidlösung)	<ul style="list-style-type: none"> • PBS-Puffer • 30% H₂O₂ 	5 ml 15 µl
<i>Abgedunkelt auf dem Magnetrührer auflösen und unter dem Abzug filtrieren</i>		
Gebrauchs-Lösung:	<ul style="list-style-type: none"> • Aqua dest. • Stammlösung • DAB 	60 ml 400 µl 6 Tabletten ¹⁶

Protein Block Serum Free with Background reducing components⁷

StreptAB-Complex

Methanol²

Antibody-Diluent⁷

VECTASHIELD® Mounting Medium for Fluorescence with DAPI⁹

Antikörper:

- *CD8 α-Antikörper: Ms mAb to CD8 α (FITC)⁵*
- *CD4-Antikörper: Ms mAb to CD4 (CT-4) (FITC)⁵*
- *Mouse anti-human Eosinophil Major Basic Protein (EMBP)⁶*
- *Rabbit anti-mouse-IgG-FITC⁷*
- *Phalloidin-TRITC³*
- *Mouse anti-vimentin⁷*
- *Pancytokeratin plus⁸*
- *Rabbit anti- non muscle myosin⁵*
- *Fluorescein Anti-Rabbit IgG (made in Goat)⁹*

4. Lösungen für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen

4.1. Fixierungen

Paraformaldehydlösung:

<ul style="list-style-type: none"> • Paraformaldehyd³ • in Aqua dest. bei 60-70°C auf Magnetprüher lösen • und 1M NaOH¹ zugeben 	10 g 100 ml 1-2 Tropfen
--	-------------------------------

Karnovsky-Stammlösung:

<ul style="list-style-type: none"> • 10% Paraformaldehydlösung • 0,2M Natriumcacodylatpuffer (pH 7,2) • Calciumchlorid wasserfrei¹⁰ 	20 ml 50 ml 0,05 g
---	--------------------------

Karnovsky-Gebrauchslösung:

<ul style="list-style-type: none"> • Karnovsky-Stammlösung • Glutaraldehyd 25%¹¹ 	10 ml 1,37 ml
→ erst kurz vor Gebrauch anmischen	

4.2. Puffer

0,2M Natriumcacodylatpuffer (pH 7,2):

Stammlösung:	<ul style="list-style-type: none"> • Natriumcacodylat¹¹ • in Aqua dest. lösen 	18,26 g 200 ml
Gebrauchslösung:	<ul style="list-style-type: none"> • Stammlösung • 0,2M Salzsäure¹ • Aqua dest. 	50 ml pH 7,2 einstellen auf 100 ml auffüllen

0,1M Natriumcacodylatpuffer (pH 7,2):

<ul style="list-style-type: none"> • 0,2M Natriumcacodylatpuffer (pH 7,2) • Aqua dest. 	50 ml 50 ml
--	----------------

4.3. Kontrastierungslösungen

4.3.1. Vorkontrastierungslösungen

3% Kaliumferrocyanid-Stammlösung:	<ul style="list-style-type: none"> • Kaliumferrocyanid³ • 0,1M Natriumcacodylatpuffer (pH 7,2) 	0,3 g 10 ml
2% Osmiumtetroxid-Stammlösung:	<ul style="list-style-type: none"> • 4% Osmiumtetroxid¹¹ • 0,1M Natriumcacodylatpuffer (pH 7,2) 	2 ml 2 ml
1,5% Kaliumferrocyanid + 1% Osmiumtetroxid ¹¹ in 0,1M Natriumcacodylatpuffer (pH 7,2):	<ul style="list-style-type: none"> • Kaliumferrocyanid-Stammlösung • Osmiumtetroxid-Stammlösung 	4 ml 4 ml

4.3.2. Nachkontrastierungsmedien

Uranylacetat¹²

Bleicitrat nach Reynolds:

<ul style="list-style-type: none"> • Bleinitrat³ • Natriumcitrat³ • Aqua dest. 	1,33 g 1,76 g 30 ml
→ 30 Minuten regelmäßig schütteln, bis eine milchige Lösung entsteht	
• NaOH-Plätzchen ²	
→ einzeln nacheinander lösen, bis zum Erreichen einer klaren Lösung	
• Aqua dest.	auf 50 ml auffüllen

4.4. Einbettmedien

Ethanol²

Propylenoxid¹¹

Epon

Poly/Bed® 812-BDMA Embedding Kit ¹¹	<ul style="list-style-type: none"> • Poly/Bed® 812 • DDSA • NMA • BDMA 	10 ml 8 ml 5 ml 0,7 ml
--	--	---------------------------------

4.5. Färbelösungen

Methylenblau nach Richardson:

1% Methylenblau:	<ul style="list-style-type: none"> • Methylenblau² • Aqua dest. 	1 g 100 ml
1% Borax:	<ul style="list-style-type: none"> • Natriumtetraboratdecahydrat¹⁰ • Aqua dest. 	1 g 100 ml
→ <i>Methylenblau-Borax-Lösung 1:1 mit Azurlösung mischen</i>		
1% Azur II:	<ul style="list-style-type: none"> • Azur II⁴ • Aqua dest. 	1 g 100 ml

4.6. Sonstiges

Einbettform, 21 Vertiefungen 74 x 61 x 6mm¹⁴

Film, orthochromatisch s/w unperforiert, 70mm x 30m¹⁴

Grids, hexagonal Copper 150 Mesh¹¹

¹CARL ROTH, Karlsruhe, Deutschland

²MERCK, Darmstadt, Deutschland

³SIGMA-ALDRICH CHEMIE, Steinheim, Deutschland

⁴WALDECK, Münster, Deutschland

⁵ABCAM, Cambridge, Großbritannien

⁶ABD SEROTEC, Kidlington, Großbritannien

⁷DAKO, Hamburg, Deutschland

⁸BIOCARTA, Hamburg, Deutschland

⁹VECTOR, Burlingame, USA

¹⁰SERVA, Heidelberg, Deutschland

¹¹POLYSCIENCES INC., Warrington, USA

¹²AGAR SCIENTIFIC LTD, Essex, Großbritannien

¹³E-Y LABS, San Mateo, USA

¹⁴PLANO GMBH, Wetzlar, Deutschland

¹⁵LEICA, Newcastle Upon Tyne, Großbritannien

¹⁶KEM EN TEC DIAGNOSTICS, Taastrup, Dänemark

X. DANKSAGUNG

Ich möchte mich ganz herzlich bei Herrn Prof. Dr. Dr. Dr. habil. F. Sinowatz für die Überlassung des Themas, für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und der Materialien und vor allem für die wissenschaftliche Betreuung als Doktorvater bei der Erstellung dieser Arbeit bedanken. Des Weiteren danke ich ihm für die Anfertigung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen und Unterstützung bei der Anfertigung der fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen.

Ebenso danke ich allen Institutsmitarbeitern des Lehrstuhls für Anatomie, Histologie und Embryologie. Im Besonderen gilt mein Dank Frau W. Scholz für die Anfertigung der Proben für die Elektronenmikroskopie und ihr großes Engagement für die Doktoranden.

Herrn Y. Gök und Frau A. Servatius gilt mein besonderer Dank für ihre freundliche Unterstützung, die Einarbeitung in die lichtmikroskopischen und glykohistochemischen Arbeiten und ihre Hilfe bei den Arbeitsabläufen im Labor. Frau G. Rußmeier danke ich für ihre Anleitung zu den immunhistochemischen Untersuchungen. Herrn F. Habermann danke ich sehr für seine Einarbeitung in die Mikroskopiertechnik und seine Anleitung in die Verarbeitung und Veranschaulichung der Daten.

Frau M. Kazior danke ich für die Beantwortung aller organisatorischen Fragen.

Ein besonderer Dank gilt der Familie Engelhardt von der Straußenfarm Donaumoos in Leipheim für die Möglichkeit der Probenentnahme, die stets freundliche Unterstützung und ihr engagiertes Interesse.

Danken möchte ich all meinen Freunden! Mein ganz besonderer Dank gilt meinen lieben Freundinnen und Kolleginnen Nadja Kunkel und Pauline Dallmeyer, die mich immer wieder ermutigt haben und mit denen die Zeit der Doktorarbeit zu einem besonderen Vergnügen geworden ist! Ich werde die Zeit immer in schöner Erinnerung behalten.

Meinem Freund Fabian danke ich sehr für seinen Rückhalt, seine Geduld und Unterstützung. Auf dass mein Schreibtisch wieder zu unserem gemeinsamen Esstisch werde! Vielen Dank auch an Ingrid, Robert und Florine für ihre Ermutigungen und ihr kulinarisches Verwöhnprogramm. Meiner Schwester Brigitte und meinem Schwager Christoph danke ich von Herzen für ihre emotionale Unterstützung und Julian und Anna für die Freude die sie uns bringen.

Meiner Mama und meinem Papa widme ich diese Arbeit, aus großem Dank für ihr Vertrauen in mich und für ihre uneingeschränkte Hilfe im Laufe meiner Ausbildung und meines bisherigen Lebens. Vielen Dank, dass Ihr immer an mich geglaubt habt und auch noch jetzt immer für mich da seid!